

**Aus der Universitätsklinik für Urologie Tübingen
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. A. Stenzl**

**Evaluation der Einflüsse der potenziellen Störfaktoren
Hämaturie und Harnwegsinfekt sowie der Art der
Uringewinnung auf die Wertigkeit der Urinmarker
Zytologie, UroVysion, NMP22 ELISA und uCyt+ für die
Diagnostik des Urothelkarzinoms der Harnblase**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

**vorgelegt von
Veronika Tews
aus
Reutlingen**

2011

**Aus der Universitätsklinik für Urologie Tübingen
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. A. Stenzl**

**Evaluation der Einflüsse der potenziellen Störfaktoren
Hämaturie und Harnwegsinfekt sowie der Art der
Uringewinnung auf die Wertigkeit der Urinmarker
Zytologie, UroVysion, NMP22 ELISA und uCyt+ für die
Diagnostik des Urothelkarzinoms der Harnblase**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

**vorgelegt von
Veronika Tews
aus
Reutlingen**

2011

Dekan:	Professor Dr. I.B. Autenrieth
1. Berichterstatter:	Professor Dr. A. Stenzl
2. Berichterstatter:	Professor Dr. B. Sipos

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Harnblasenkarzinom	1
1.1.1. Epidemiologie	1
1.1.2. Ätiologie und Risikofaktoren	2
1.1.3. Klassifikation.....	3
1.1.4. Klinik	6
1.1.5. Diagnostik und Staging.....	9
1.1.6. Therapie	12
1.1.7. Prognose	19
1.2. Nichtinvasive Urindiagnostik	20
1.2.1. Urinmarkertests	21
1.2.2. Einsatz von Urinmarkertests.....	24
1.3. Fragestellung	25
2. Material und Methoden	28
2.1. Patientenkollektiv	28
2.1.1. Rekrutierung der Patienten.....	28
2.2. Ablauf der Untersuchungen	29
2.2.1. Uringewinnung.....	29
2.2.2. Urinfixation.....	31
2.2.3. Durchführung der Tests	32
2.2.4. Urinstatus	42
2.3. Parallele Zystoskopie und Histologie	44
2.4. Dokumentation der erhobenen Daten	45
2.5. Statistische Analyse	47
2.6. Berechnungen	47

2.7. Datenschutz	48
2.8. Ethik	49
3. Ergebnisse	50
3.1. Beschreibung des Patientenkollektivs	50
3.1.1. Alters- und Geschlechterverteilung.....	50
3.1.2. Lokalisation und Tumorstadium	51
3.1.3. Häufigkeit der potenziellen Einflussfaktoren Hämaturie und HWI.	51
3.2. Testdurchführung	52
3.2.1. Herkunft der Urinproben und Invasivität der Urinentnahme.....	52
3.2.2. Harnmarkertests und Verteilung der Ergebnisse	52
3.3. Einfluss der Störfaktoren auf das Testergebnis	53
3.3.1. Zytologie	53
3.3.2. UroVysion	64
3.3.3. ImmunoCyt/uCyt+	73
3.3.4. NMP22.....	83
3.4. Gesonderte Betrachtung von Urinproben des oberen Harntrakt..	91
4. Diskussion	92
4.1. Nichtinvasive Urindiagnostik	92
4.2. Urindiagnostik und potenziell Einfluss nehmende Parameter	92
4.3. Eigenschaften des Patientenkollektivs	93
4.3.1. Alters- und Geschlechterverteilung.....	93
4.3.2. Lokalisation und Tumorstadium	94
4.3.3. Auftreten von Hämaturie und HWI in Verbindung mit einem Harnblasenkarzinom	95
4.4. Diagnostik mittels Harnmarkertests	96
4.4.1. Invasivität der Urinprobenentnahme	96
4.4.2. Harnmarkertests	96

4.5. Zusammenhang der Einflussparameter mit den Ergebnissen der Urintests	97
4.5.1. Einfluss einer Hämaturie auf das Testergebnis	97
4.5.2. Einfluss eines Harnwegsinfekts auf das Testergebnis.....	100
4.5.3. Einfluss von invasiver Uringewinnung auf das Testergebnis	102
4.6. Wechselwirkungen der Faktoren	105
4.6.1. Wechselwirkungen der Faktoren auf die Zytologie	106
4.6.2. Wechselwirkungen der Faktoren auf den UroVysion-Test.....	106
4.6.3. Wechselwirkungen der Faktoren auf den uCyt+-Test.....	106
4.6.4. Wechselwirkungen der Faktoren auf den NMP22-Test	107
4.7. Limitationen der vorliegenden Arbeit.....	107
4.7.1. Patientenkollektiv.....	107
4.7.2. Potenzieller untersucherabhängiger Einfluss.....	108
5. Schlussfolgerung	109
5.1. Kritische Betrachtung bisheriger Ausschlusskriterien	109
5.1.1. Zytologie	109
5.1.2. UroVysion	109
5.1.3. uCyt+	110
5.1.4. NMP22.....	110
5.2. Bewertung der Tests bezüglich ihrer Störanfälligkeit.....	111
6. Zusammenfassung.....	113
7. Abkürzungen	115
8. Literaturverzeichnis	117
9. Anhang.....	126

1. Einleitung

1.1. Harnblasenkarzinom

1.1.1. Epidemiologie

Das Harnblasenkarzinom macht 5% aller malignen Erkrankungen in Europa aus (Sengupta et al. 2004) und ist die häufigste Tumorerkrankung des Harntrakts (Ferlay et al. 2004). In Deutschland erkranken laut Angaben des Robert-Koch-Instituts sowie der Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. pro Jahr rund 28.750 Menschen an einer malignen Neoplasie der Blase. Die Inzidenz steigt mit dem Alter, das mittlere Erkrankungsalter liegt mit 71 Jahren bei Männern und 74 Jahren bei Frauen relativ hoch (Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. und das RKI 2008). Männer sind 3,8mal so häufig betroffen wie Frauen, bei Männern steht das Harnblasenkarzinom an vierter Stelle in der Häufigkeit aller malignen Erkrankungen (Ferlay et al. 2007).

Bei Diagnosestellung können 70% der Karzinome als nicht-muskelinvasiv klassifiziert werden, während 30% bereits muskelfiltrierend oder metastasiert sind (Vaidya et al. 2001). Dabei sind Frauen häufiger von primär muskelfiltrierenden Tumoren betroffen als Männer, 85% der Patientinnen mit radikaler Zystektomie waren bei Diagnosestellung bereits in diesem Stadium (51% bei Männern) (Vaidya et al. 2001).

Aufgrund der hohen Inzidenz und des typischen Krankheitsverlaufs mit häufigen Rezidiven und langen Nachbeobachtungszeiträumen ist das Blasenkarzinom mit einem enormen Kostenaufwand verbunden. Es ist die teuerste Krebserkrankung überhaupt, sowohl im Hinblick auf die Kosten pro Jahr und Patient, als auch was die Lebenszeitkosten betrifft (Stenzl et al. 2008).

1.1.2. Ätiologie und Risikofaktoren

Wichtigster und häufigster Risikofaktor für die Entwicklung eines Harnblasenkarzinoms ist Zigarettenrauchen. Es verdreifacht das individuelle Erkrankungsrisiko, wobei sowohl die Dauer und Menge (pack years) als auch das Alter bei Beginn des Nikotinkonsums direkten Einfluss auf die Erkrankungswahrscheinlichkeit haben (Bierregaard et al. 2006). Etwa 60% aller Urothelkarzinome bei Männern können auf das Rauchen zurückgeführt werden.

Zweitwichtigster Faktor ist die Exposition gegenüber aromatischen Aminen und Nitrosaminen wie beispielsweise Aminobiphenyl, Benzidin, 2-Naphthylamin, Dichlorbenzidin, Auramin oder Phenacetin. Sie ist meist berufsbedingt und kommt vor in der Verarbeitung von Textilien, Gummi, Farben, Leder oder Chemikalien (Pashos et al. 2002). Auch der Kontakt mit Arsen und Steinkohle gilt als Risikofaktor (Lamm et al. 2006). In diesen Fällen kann das Blasenkarzinom als Berufskrankheit anerkannt werden.

Die chemischen Karzinome wirken grundsätzlich auf das gesamte Urothel schädlich, dennoch entstehen über 90% der Urothelkarzinome in der Harnblase. Dies liegt daran, dass in der Harnblase die größte Urotheloberfläche liegt und das Epithel zudem durch die Speicherfunktion der Harnblase eine längere Kontaktzeit mit den Karzinogenen hat.

Chronische Harnwegsinfekte zählen ebenfalls als Risiko für das Harnblasenkarzinom. Die chronische Infektion mit *Schistosoma haematobium* verfünffacht das Risiko für Plattenepithelkarzinome der Blase, was vor allem in bestimmten Regionen Afrikas, Asiens und Südamerikas eine Rolle spielt (McDougal et al. 2008).

Weitere Einflussfaktoren sind eine frühere Bestrahlungstherapie des kleinen Beckens, etwa bei gynäkologischen Malignomen oder Prostatakarzinom sowie eine Therapie mit Cyclophosphamid oder Ifosfamid (Kaldor et al. 1995).

Bei den unterschiedlichen Erkrankungszahlen von Männern und Frauen mag neben den äußeren Einflüssen wie Zigarettenrauch und Arbeitsstoffen auch der

Hormonstatus eine Rolle spielen, wobei hier noch keine ausreichende Datenlage gegeben ist (McGrath et al. 2006).

1.1.3. Klassifikation

1.1.3.1. TNM-Klassifikation

Die TNM-Klassifikation der UICC (Union Internationale Contre le Cancer) ist für die meisten Tumorentitäten definiert und erreicht weltweit große Akzeptanz. Sie umfasst im Wesentlichen 3 Kriterien der Einteilung: die Größe bzw. Invasivität des Primärtumors (T), den Befall von Lymphknoten (N) und das Vorhandensein von Fernmetastasen (M).

T	Tx	Primärtumor nicht beurteilbar
	T0	Kein Anhalt für Primärtumor
	Ta	Nicht-invasiver papillärer Tumor
	Tis	Carcinoma in Situ
	T1	Tumor infiltriert subepitheliales Bindegewebe
	T2	Tumor infiltriert Muskulatur
	T2a	Infiltration oberflächlicher Muskeln (innere Hälfte)
	T2b	Infiltration tiefer Muskulatur (äußere Hälfte)
	T3	Tumor infiltriert perivesikales Gewebe
	T3a	Mikroskopische Infiltration
	T3b	Makroskopische Infiltration (extravesikale Masse)
	T4	Tumor infiltriert Nachbarorgane
	T4a	Infiltration von Prostata oder Uterus oder Vagina
T4b	Infiltration von Becken oder Bauchwand	
N	Nx	Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden
	N0	Keine regionären Lymphknotenmetastasen
	N1	Solitäre Lymphknotenmetastasen <2cm
	N2	Solitäre/Multiple LK-Metastasen >2cm und <5cm
	N3	Solitäre/multiple LK-Metastasen >5cm
M	Mx	Fernmetastasen können nicht beurteilt werden
	M0	Keine Fernmetastasen
	M1	Fernmetastasen

Tab. 1: TNM-Klassifikation des Harnblasenkarzinoms (Sobin und Wittekind 2002). Einteilung der Infiltrationstiefe (T), der Tumorausdehnung auf Lymphknoten (N) und der Fernmetastasen (M).

Fakultativ kann die Lymphgefäßinvasion (L), der Venenbefall (V) sowie der Residualtumor nach Therapie (R) benannt werden. Die neueste Version der TNM-Klassifikation des Harnblasenkarzinoms stammt aus dem Jahre 2002 und unterscheidet sich von früheren Einteilungen in der Definition der Stadien T2 und T3 (Sobin und Wittekind 2002) (Tab. 1).

Im Bezug auf die Ausdehnung auf die Wandschichten der Blase lassen sich oberflächliche, nicht muskelinvasive Tumoren (Ta und T1) von muskelinvasiven (T2 bis T4) Tumoren unterscheiden (Babjuk et al. 2008) (Abb. 1).

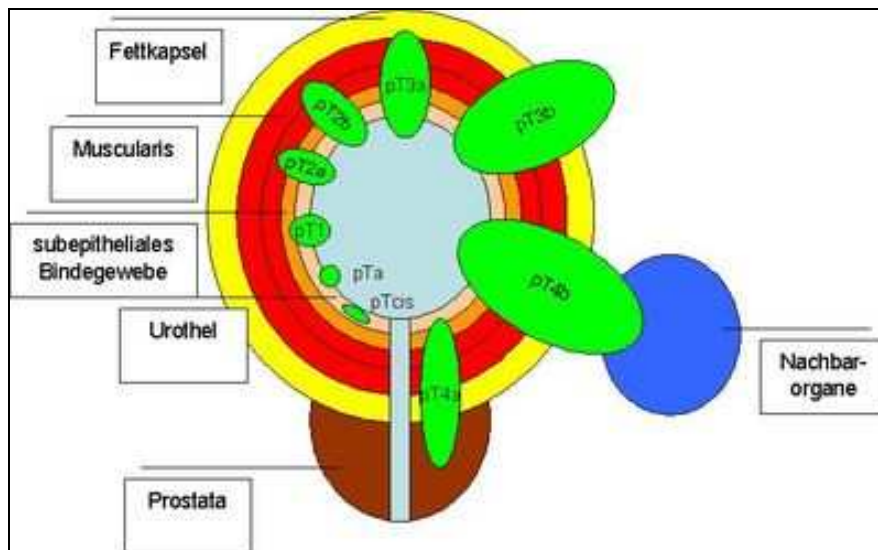


Abb. 1: Stadien des Urothelkarzinoms. Unterschiedliche Infiltrationstiefen des Karzinoms im Bezug auf die Harnblase und die Nachbarorgane. Bezeichnung nach der TNM-Klassifikation (siehe Tab. 1).

1.1.3.2. WHO/ISUP-Klassifikation

Die Einteilung der WHO (World Health Organisation) in Zusammenarbeit mit der ISUP (International Society of Urological Pathology) von 2004 richtet sich hauptsächlich nach der histologischen Morphologie. Sie unterscheidet hierbei drei Gruppen: papilläre urotheliale Präkanzerosen (PUNLMP = papillary urothelial neoplasm of low malignant potential), low-grade und high-grade Urothelkarzinome. Hiermit ist eine Abschätzung des malignen Potentials der Neoplasie möglich – je höher die Gradzahl, desto höher der Malignitätsgrad (Lopez-Beltran und Montironi 2004). Eine ältere Einteilung der WHO von 1973 ist in der klinischen Routine noch immer gebräuchlich und soll deshalb an dieser Stelle ebenfalls genannt werden. Sie unterscheidet sich von der neueren Einteilung hauptsächlich dadurch, dass in dieser die umstrittene Gruppe 2 der mäßig differenzierten Tumoren wegfällt (Lopez-Beltran und Montironi 2004) (Tab. 2).

WHO Grading 1973		WHO Grading 2004	
G1	Gut differenziertes urotheliales Papillom	PUNLMP	Papilläre urotheliale Neoplasie von niedrigem malignem Potential
		Low-grade (LGPUC)	Gut differenziertes urotheliales Papillom
G2	mäßig differenziertes urotheliales Papillom		
G3	Schlecht differenziertes urotheliales Papillom	High-grade (HGPUC)	Schlecht differenziertes urotheliales Papillom

Tab. 2: WHO-Klassifikation des Harnblasenkarzinoms (nach Lopez-Beltran und Montironi 2004). Einteilung nach histopathologischen Kriterien.

1.1.3.3. Pathologische Klassifikation der morphologischen Subtypen

Neben der bereits vorgestellten, prognostisch bedeutsamen Einteilung in TNM-Stadium und Grading, kann eine Neoplasie der Harnblase zudem nach pathomorphologischen Kriterien klassifiziert werden. Diese Einteilung nach Zelltyp und Differenzierungsgrad wurde ebenfalls durch die World Health Organisation definiert und in der Klassifikation von 2004 festgehalten, hier zeigt sich eine sehr große Heterogenität der Neoplasien der Harnblase. Fasst man die einzelnen Subtypen zusammen, so sind mehr als 90% der Harnblasenkarzinome Übergangszellkarzinome, also Urothelkarzinome mit überwiegend papillärem Wachstumsmuster (Kaufman et al. 2009). Etwa 5% entfallen auf Plattenepithelkarzinome. Sehr selten sind Adenokarzinome (2%) und Urachuskarzinome der Blase (Mostofi et al. 1973).

1.1.4. Klinik

Zu den ersten klinischen Zeichen eines Harnblasenkarzinoms gehört die schmerzlose Hämaturie, die bei etwa 80% der Patienten auftritt und das führende Leitsymptom urothelialer Karzinome ist. Bei Patienten mit nicht-muskelinvasivem Karzinom ist wenn überhaupt die Makrohämaturie das einzige klinische Zeichen der Erkrankung. Weitere mögliche Beschwerden muskelinvasiver Karzinome sind Dysurie, häufiger Harndrang, Urge-Inkontinenz

und Schmerzen im Beckenbereich. Das Auftreten der letztgenannten Symptome kann die maligne Erkrankung teilweise maskieren, da differentialdiagnostisch viele und weit häufigere Ursachen der Beschwerden in Frage kommen, gleichzeitig weisen sie allerdings auf ein invasives und obstruierendes Wachstum der Neoplasie hin. Im fortgeschrittenen Tumorstadium imponiert das Harnblasenkarzinom durch Harnabflussstörungen der oberen Harnwege mit konsekutivem Harnstau, durch Gewichtsabnahme sowie Anämie. In der klinischen Untersuchung kann sich die Neoplasie als palpable Tumormasse darstellen, wobei dies ebenfalls erst bei fortgeschrittener Erkrankung zu erwarten ist (Fossa et al. 1991).

1.1.4.1. *Hämaturie*

Da die Hämaturie als potenzieller Störfaktor der Urinmarkertests in dieser Arbeit einen zentralen Platz einnimmt und wesentlicher Teil der Untersuchungen ist, soll an dieser Stelle näher darauf eingegangen werden.

Hämaturie ist definiert als eine pathologisch erhöhte Ausscheidung von Erythrozyten im Urin. Von Makrohämaturie spricht man bei einer sichtbaren Rotfärbung des Urins durch Blutbeimengung, was in der Mikroskopie einer Konzentration von mehr als 50 Erythrozyten pro Gesichtsfeld bei 400facher Vergrößerung entspricht. Die Farbkraft des Hämoglobins ist sehr groß, so dass bereits 2ml Blut in 500ml Urin genügen, um eine sichtbare Rotfärbung zu bewirken. Mikrohämaturie beschreibt den Nachweis von Erythrozyten per Teststreifen oder in der Mikroskopie (>3 Erythrozyten pro Gesichtsfeld bei 400facher Vergrößerung in 5-20 Gesichtsfeldern), ohne sichtbare Verfärbung des Harns.

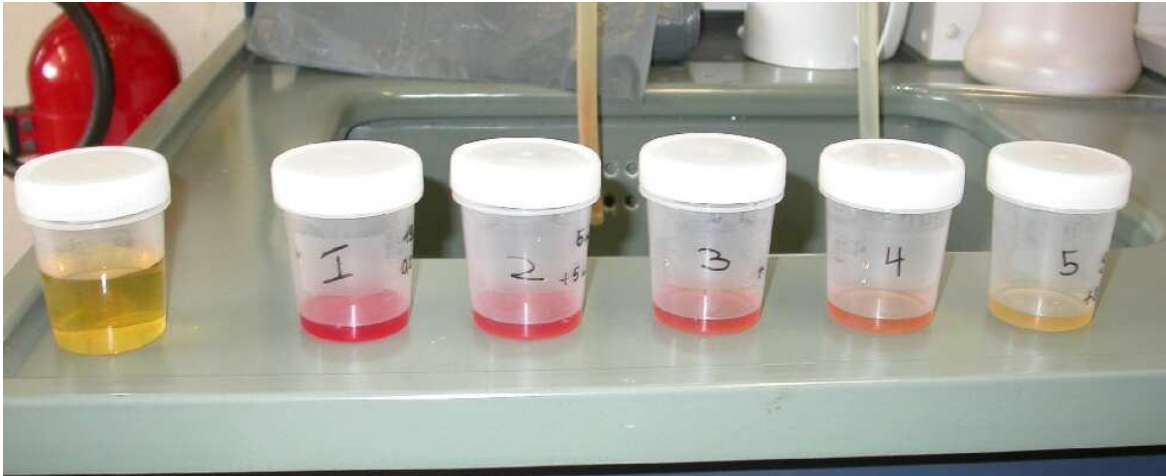


Abb. 2: Exemplarisch angefertigte Verdünnungskaskade zur Darstellung des makroskopischen Aspekts einer Hämaturie: Nativurin (Becher ohne Beschriftung links), versetzt mit 1% Eigenblut (1), 0.5% (2), 0.25% (3), 0.125% (4) und 0.025% (5).

Die Ursachen einer Hämaturie sind vielfältig und es kommen differentialdiagnostisch zahlreiche benigne und maligne Erkrankungen in Frage. In Studien zur Screening-Untersuchung asymptomatischer Patienten zeigte sich, dass bei 9-18% der Bevölkerung eine Mikrohämaturie nachgewiesen werden kann (Messing et al. 2006). In den meisten Fällen ist keine kausale Ursache festzustellen. Besteht eine Makrohämaturie, so sind prärenale Ursachen der Blutbeimengung wie Antikoagulation oder hämorrhagischer Diathese häufig. Anhand der Drei-Gläser-Probe und der Untersuchung der Morphologie der Erythrozyten kann hierbei die Lokalisation einer Blutung innerhalb des Harntrakts eingegrenzt werden. Dysmorphie Erythrozyten sprechen für eine renale Blutungsquelle. Diese renale Hämaturie tritt auf bei entzündlichen Erkrankungen wie Glomerulonephritiden und Pyelonephritiden oder seltener aus traumatischer, ischämischer oder maligner Genese. In ihrer Form unveränderte Zellen geben Hinweis auf eine postrenale Blutung. Steinleiden und Zystitiden sind häufige Ursachen postrenalere Blutungen, in diese Gruppe gehören auch die Tumoren der ableitenden Harnwege. Fast alle Patienten mit Harnblasenkarzinom haben eine Hämaturie, aber nur bei weniger als 5% der Patienten mit Hämaturie ist ein Urothelkarzinom die Ursache der Blutbeimengung (Budman et al. 2008).

1.1.5. Diagnostik und Staging

1.1.5.1. *Nichtinvasive Diagnostik*

Erste Schritte in der Abklärung einer Hämaturie oder bei Verdacht auf das Vorliegen eines Urothelkarzinoms sind nach der genauen Anamnese und körperlicher Untersuchung nichtinvasive Verfahren wie die Urinuntersuchung per Sedimentmikroskopie, Zytologie und Urinmarkertests. Als bildgebendes Verfahren steht die Sonographie an erster Stelle und bietet eine risikoarme, breit zugängliche und aussagekräftige diagnostische Möglichkeit (Patschan et al. 2008). Sowohl der obere Harntrakt als auch die ableitenden Harnwege können bezüglich einer Raumforderung, eines Harnstaus und intraluminalen Füllungsdefekten beurteilt werden, wobei die Sensitivität der Untersuchung eingeschränkt ist. Im Anschluss kann ein Ausscheidungsurogramm (AUR) folgen, mit Hilfe dessen Raumforderungen im oberen Harntrakt dargestellt werden können, wobei die Sensitivität dieser Untersuchung als eher gering einzustufen ist (Patschan et al. 2008). Alternativ dazu steht die CT-Urographie mit Kontrastmittel zur Verfügung (Nolte-Ernsting und Cowan 2006). Für die zukünftige Entwicklung der nichtinvasiven Diagnostik ist die MR-Urographie vielversprechend, da sie nicht mit Strahlenbelastung einhergeht und periureterale Veränderungen mitbeurteilt werden können (Patschan et al. 2008).

1.1.5.2. *Urinzytologie*

Die Zytologie wird neben der Zystoskopie als Goldstandard in der Diagnostik des Urothelkarzinoms eingesetzt. Aufgrund zytolytischer Effekte über Nacht sollte für die Untersuchung kein Morgenurin verwendet werden, da sonst gehäuft falsch-positive Ergebnisse zu beobachten sind. Die Zytologie zeichnet sich aus durch eine hohe Spezifität und eine gute Sensitivität (über 90%) - bei hochgradigen Tumoren und bei CIS. Bei gut differenzierten Malignomen zeigt sie allerdings eine nicht zufriedenstellende Sensitivität von 20-60%. Die deutlich unterschiedlichen Angaben zu Sensitivität und Spezifität in der Literatur – es wird von einer Spezifität zwischen 12-84% berichtet (Budman et al. 2008) - werden auf die Untersucher-Abhängigkeit der Urinzytologie zurückgeführt. Dieser subjektive Einfluss in die Auswertung der Zytologie ist abhängig vom

Durchsatz des Zentrums und von der Schulung und Qualifikation der Mitarbeiter und ist ein wesentlicher Nachteil in der Vergleichbarkeit der Testergebnisse.

1.1.5.3. Zystoskopie

Goldstandard in der Diagnostik des Harnblasenkarzinoms ist die Zystoskopie, gegebenenfalls mit Entnahme von Probenbiopsien und histologischer Aufarbeitung. Sie ist zur Sicherung der Diagnose bei fraglichen oder auffälligen Befunden in jedem Fall anzuraten (Patschan et al. 2008). Im klinischen Alltag wird meist die Zystoskopie mit flexiblem Zystoskop durchgeführt, unterscheiden lassen sich hierbei noch die Standarduntersuchung mit Weißlicht (WL = white light cystoscopy) von der Fluoreszenz-Zystoskopie (PDD = photodynamic diagnostic). Dabei wird nach intravesikaler Gabe von fluoreszierendem Kontrastmittel (5-Aminolaevulinsäure oder Hexaminolaevulinat) die Zystoskopie mit blauem Licht durchgeführt, wodurch sich auffällige Areale der Blasenschleimhaut besonders gut darstellen (Hexvix® = hexaminolevulinate fluorescence cystoscopy). Vor allem für CIS-Tumoren konnten hier bessere Detektionsergebnisse als in der Weißlichtzystoskopie erzielt werden (Schmidbauer et al. 2004).

Vorteile der Zystoskopie sind ihre hohe Sensitivität und die Möglichkeiten der histopathologischen Diagnosebestätigung und der prognostisch relevanten Stadieneinteilung, die die Auswahl einer adäquaten Therapie ermöglicht (Budman et al. 2008). Zu den Nachteilen zählen die Invasivität des Eingriffs und die damit verbundene Belastung des Patienten, sowie die relativ hohen Kosten des Eingriffs (Lotan et al. 2006). Zudem zeigt die Zystoskopie ihre Schwächen in der Erkennung von kleinen, flachen Tumoren oder Carcinomata in situ (Budman et al. 2008). Trotzdem ist sie unverzichtbar und alleine beweisend für das Vorliegen eines Harnblasenkarzinoms.

1.1.5.4. Transurethrale Resektion von Blasenanteilen (TUR-B)

Sowohl aus diagnostischer als auch therapeutischer Absicht wird die transurethrale Resektion von Blasenwandgewebe (TUR-B) durchgeführt. Bei oberflächlichen Tumoren (histologisches Stadium Ta/T1), die kleiner als 1cm im

Durchmesser sind, kann das maligne Gewebe im Idealfall en bloc entnommen werden. Dabei sollte das Resektat den kompletten Tumor sowie Teile der darunter liegenden Blasenwand und der Blasenmuskulatur enthalten, um Aussagen über eine mögliche Muskelinvasivität machen zu können. Bei größeren Tumoren wird das Gewebe in einzelnen Fraktionen entfernt, das Resektionsmaterial vom Tumorgrund, der Blasenwand, der Blasenmuskulatur und den Tumorrandgebieten wird einzeln in die Pathologie eingeschickt. Anschließend werden an verschiedenen Stellen aus makroskopisch auffälligen Arealen – bei Anwendung der PDD-Zystoskopie solche Gebiete, die besonders starke Fluoreszenz zeigen - und aus unauffällig erscheinendem Urothel Biopsien entnommen, um multifokale Tumoren zu erfassen und Präkanzerosen auszuschließen. Die TUR bietet damit neben der therapeutischen Option für oberflächliche Harnblasenkarzinome auch die Möglichkeit der endgültigen Diagnosesicherung für muskelinfiltrierende Karzinome.

1.1.5.5. *Staging*

Zur weiteren Therapieplanung schließt sich bei muskelinfiltrierenden Blasenkarzinomen die Suche nach befallenen Lymphknoten und Fernmetastasen an. Die Beurteilung des lokalen Tumorwachstums und Befalls von Nachbarorganen erfolgt durch CT- oder MRT-Untersuchung (Barentsz et al. 1996). Die Bildgebung ist allerdings nur indiziert, wenn sich daraus eine therapeutische Konsequenz ableiten lässt. Eine hämatogene Metastasierung in Lunge oder Leber lässt sich ebenfalls per CT oder MRT beurteilen. Da ossäre und cerebrale Metastasen zum Zeitpunkt der Primärdiagnose selten sind und meist mit einer typischen Symptomatik einhergehen, muss eine Bildgebung hier nur bei begründetem Verdacht erfolgen (Van der Molen et al. 2008, Cowan et al. 2007). Mit dem PET-CT kann der Nachweis von lokoregionären Lymphknotenmetastasen gelingen, sofern nicht ohnehin die pelvine Lymphknotendissektion im Rahmen einer radikalen Zystektomie geplant ist. Tabelle 3 zeigt eine Übersicht der Empfehlungen der EAU für das Staging bei gesichertem Harnblasenkarzinom.

Fragestellung	Empfohlene Staging-Untersuchungen
Diagnose invasives Blasenkarzinom	Zystoskopie mit Biopsie Bildgebung nur falls therapeutische Konsequenz
Lokales Staging bei möglichem radikalem Therapieansatz	MRT mit Kontrastmittel Spiral-CT mit Kontrastmittel
Bei gesichertem muskelinvasivem Karzinom	Spiral-CT von Thorax, Abdomen, Becken plus CT-Urographie 2.Wahl: AUR plus Röntgenthorax

Tab. 3: EAU-Empfehlungen für das Staging bei gesichertem Harnblasenkarzinom (Stenzl et al. 2009).

1.1.6. Therapie

1.1.6.1. Nicht-muskelinvasive Blasenkarzinome (Ta/T1)

Bei Vorliegen eines nicht-muskelinvasiven Blasenkarzinoms ist die Therapie der Wahl die TUR des Tumors unter Mitnahme von darunter liegendem tumorfreiem Muskelgewebe. Hierbei handelt es sich um den erfolgreichsten Therapieansatz (Stenzl 2009), mit dem Ziel der Heilung durch komplette Resektion aller malignen Gewebeanteile. Bei 33-53% der Patienten mit T1-Tumoren kann allerdings nach erfolgter TUR noch ein Residualtumor nachgewiesen werden (Miladi et al. 2003). In diesen Fällen und bei fehlendem Muskelanteil im Resektat wird die Nachresektion zwei bis sechs Wochen nach erfolgter TUR empfohlen (Grimm et al. 2003).

Ein wesentliches Merkmal urothelialer Tumoren der Harnblase ist die hohe Rezidivrate, gerade auch bei Patienten mit nicht-muskelinvasiven Neoplasien. So tritt bei vielen Patienten trotz erfolgreicher TUR mit tumorfreier Nachresektion ein Rezidiv auf, in selteneren Fällen ist von einem Progress des Primärtumors in muskelinvasive Stadien auszugehen (Brausi et al. 2002). Das Ausmaß adjuvanter Therapiemaßnahmen zur Risikoreduktion kann sich an einer Einschätzung des individuellen Risikos des Patienten orientieren.

1.1.6.1.1. Risikoeinschätzung für adjuvante Therapieplanung

In der Abwägung des adjuvanten therapeutischen Procedere spielt die Einschätzung des individuellen Risikos einer Progression oder eines Tumorrezidivs bei Patienten mit nicht-muskelinvasivem Blasenkrebs eine gewichtige Rolle. Eine Einteilung der EORTC (European Organization for Research and Treatment of Cancer) in 3 Risikogruppen basiert auf klinischen und pathologischen Kriterien wie Tumorzahl und –größe, initialer Rezidivrate, T-Stadium, Grading und gleichzeitigem Vorhandensein von CIS. Die Informationen werden bei einer ersten Kontrollzystoskopie 3 Monate nach TUR erhoben, diese Zystoskopie hat also weitreichende Bedeutung für die weitere Beurteilung des Verlaufs. Mit dem errechneten Score kann sowohl für die Rezidivwahrscheinlichkeit als auch für das Risiko der Progression für den einzelnen Patienten eine Aussage gemacht werden (Sylvester et al. 2006). Die Einteilung erfolgt jeweils in 3 Gruppen: hohes, mittleres und geringes Risiko mit Angabe der prozentualen Wahrscheinlichkeit eines Rezidivs bzw. einer Progression. Danach richten sich das weitere therapeutische Procedere und die Häufigkeit der zystoskopischen Kontrollen.

Rezidiv-Score	Wahrscheinlichkeit für ein Rezidiv in %		Risikogruppe
	Nach 1 Jahr	Nach 5 Jahren	
0	15	31	Low risk
1-4	24	46	Intermediate risk
5-9	38	62	
10-17	61	78	High risk

Tab. 4: Wahrscheinlichkeitsberechnung für Rezidiventwicklung (Sylvester et al. 2006). Angaben des prozentualen Anteils der Patienten, die nach 1 bzw 5 Jahren ein Rezidiv entwickeln, abhängig von der Punktezahl des EO

Progressions-Score	Wahrscheinlichkeit für Progression in %		Risikogruppe
	Nach 1 Jahr	Nach 5 Jahren	
0	0,2	0,8	Low risk
2-6	1	6	Intermed. risk
7-13	5	17	High risk
14-23	17	45	

Tab. 5: Wahrscheinlichkeitsberechnung für Progression (Sylvester et al. 2006). Angaben des prozentualen Anteils der Patienten, die nach einem bestimmten Zeitraum eine Progression haben, abhängig von der Punktezahl des EO

1.1.6.1.2. Intravesikale Chemotherapie

Die einmalige postoperative Gabe von Chemotherapeutika in die Blase (Frühinstillation) reduziert die Rezidivrate um 12% (Sylvester et al. 2004) und ist bei allen Patienten nach TUR indiziert. Als Agenzien kommen Mitomycin C, Epirubicin und Doxorubicin in Frage, sie sind in ihrer Wirksamkeit als gleichwertig anzusehen.

Bei Patienten mit mittlerem oder hohem Rezidivrisiko oder mit mittlerem Progressionsrisiko ist die wiederholte Gabe von Chemotherapeutika indiziert (Pawinski et al. 1996). Die optimale Dauer und Frequenz der Therapie ist noch nicht endgültig geklärt, sinnvoll erscheint ein Zeitraum von 6-12 Monaten mit 6-wöchiger Induktionstherapie und folgenden repetitiven Zyklen.

1.1.6.1.3. BCG – Immunotherapie

Die Instillation von Bacillus Calmette-Guérin (BCG) ist eine effektive Alternative zur Chemotherapie, durch die sowohl die Rezidivrate als auch die Progressionsrate gesenkt werden können (Böhle und Bock 2004). Indiziert ist sie somit bei Patienten mit hohem Risiko für Progression oder Rezidiv, oder bei mittlerem Risiko, sofern eine eingeleitete Chemotherapie nicht vertragen wurde. Bei low-risk Tumoren ist aufgrund der beträchtlichen Nebenwirkungen von BCG (wie Sepsis, Fieber, Arthritis, granulomatöse Prostatitis) von einer Therapie abzusehen. Üblicherweise werden die BCG-Installationen nach einem

empirischen 6-wöchigen-Schema verabreicht, der Therapieplan und die optimale Dosierung stehen allerdings weiterhin in der Diskussion (Böhle und Bock 2004). Die Dauer der Therapie mit BCG sollte mindestens ein Jahr betragen.

1.1.6.1.4. Zystektomie

Die radikale Zystektomie kann Patienten mit nicht-muskelinvasivem Blasenkrebs dann angeboten werden, wenn der Tumor bei Diagnosestellung ein hohes Risiko der Progression aufweist. In diesem Fall ist die Operation als Alternative zu einer einjährigen Therapie mit BCG zu sehen. Bei Patienten, bei denen eine BCG-Therapie durchgeführt wurde, die aber keinen Erfolg zeigte (beispielsweise Befundverschlechterung trotz Therapie), ist ebenfalls eine Zystektomie anzuraten. Eine Verzögerung der operativen Versorgung kann hier zu einer Verschlechterung der Prognose führen (Raj et al. 2007).

1.1.6.1.5. Follow-up

Um mögliche Rezidive eines Harnblasenkarzinoms frühzeitig zu erkennen werden wiederholte Zystoskopien im Verlauf empfohlen. Der angemessene Abstand zwischen den einzelnen Untersuchungen richtet sich wiederum nach dem individuellen Risiko des Patienten. Das Ergebnis einer ersten Zystoskopie nach 3 Monaten ist ein wichtiger prognostischer Faktor für den weiteren Verlauf (Sylvester et al. 2006). Die weiteren Empfehlungen zum Zeitabstand zwischen den einzelnen Kontrollzystoskopien sind in Tabelle 6 dargestellt.

Risiko- gruppe	Empfohlener Abstand der Follow-up Zystoskopien in Monaten						
	1. Zystoskopie	Jahr 1	Jahr 2	Jahr 3	Jahr 4	Jahr 5	später
Low risk	Nach 3 Mon	6	12	12	12	12	
High risk	Nach 3 Mon	3	3	4	6	6	12

Tab. 6: EAU-Empfehlungen für die Abstände der Kontrollzystoskopien nach nicht-muskelinvasivem Blasenkarzinom (Babjuk et al. 2008). Angabe der Zeitabstände in Monaten, abhängig vom Jahr nach Diagnosestellung

1.1.6.2. *Muskelinvasive Blasenkarzinome*

Die Standardtherapie bei muskelinvasivem Blasenkrebs ist die radikale Zystektomie (Nagele et al. 2007). Dabei stehen mehrere Operationstechniken hinsichtlich des Resektionsausmaßes und des Blasenersatzverfahren zur Auswahl. Alternativ dazu kann in manchen Fällen eine blasenerhaltende Kombinationstherapie erwogen werden.

1.1.6.2.1. Radikale Zystektomie

Im Vergleich mit anderen Therapiemöglichkeiten bringt die radikale Zystektomie den größten Gewinn an Lebenszeit. Eine verspätete Operation führt dementsprechend zu einer schlechteren Prognose, sowohl für Rezidivfreiheit als auch für die mittlere Überlebenszeit (Chang et al. 2003).

Indiziert ist die radikale Zystektomie in kurativer Absicht bei Tumoren im Stadium T2-T4a, N0-Nx, M0, sowie bei primär nicht-muskelinvasiven Tumoren (T1), die ein hohes Risiko für Progression oder Rezidiv zeigen oder die therapieresistent sind. Weitere Indikation sind alle nicht-urothelialen Karzinome der Blase. Bei lokal fortgeschrittenen Tumoren (T4b) kann die Operation als palliative Maßnahme zur Symptomkontrolle erwogen werden, die therapiebezogene Morbidität und Mortalität sind im Vergleich akzeptabel (Nagele et al. 2007).

Das Resektionsausmaß richtet sich nach der Lokalisation und Größe der Neoplasie. Grundsätzlich wird die Harnblase komplett entfernt, bei Männern unter Mitnahme von Prostata und Samenbläschen, bei Frauen von Uterus und Adnexen (Stenzl et al. 2005). Wie weit die Resektionsgrenzen hier gezogen werden sollten und ob beispielsweise Teile der Prostata belassen werden können, steht noch in Diskussion (Vallancien et al. 2002). Die Entnahme von mindestens 15 regionalen Lymphknoten dient sowohl der Evaluation des genauen Tumorstadiums als auch einer Verbesserung des Survival (Fleischmann et al. 2005). Ist das Karzinom am Blasenhal gelegen oder sind die Urethra nahen Absetzungsränder nicht tumorfrei, so sollte die Harnröhre mit

entfernt werden (Stenzl et al. 1997) (Nagele et al. 2006). Dadurch sind allerdings die Möglichkeiten des Blasenersatzes eingeschränkt.

Bei beiden Geschlechtern sind offene als auch laparoskopische Operationsverfahren gleichermaßen möglich, hinsichtlich der Lebensqualität und dem Survival zeigen sich hier bisher keine Unterschiede (Haber et al. 2007). Die Zystektomie kann dabei mit oder ohne Assistenz durch einen Operationsroboter (robot-assisted) erfolgen, ohne Einfluss auf das Outcome des Patienten (Abraham et al. 2007).

1.1.6.2.2. Blasenersatzverfahren

Der Ersatz der Blasenfunktion kann durch unterschiedliche Ableitungsformen geschehen. Die Art des Blasenersatzes beeinflusst das onkologische Outcome des Patienten nicht, hinsichtlich der Lebensqualität und der funktionellen Situation gibt es allerdings deutliche Unterschiede.

Die einfachste Form der Urinableitung mit einer kurzen Operationszeit ist die Ureterocutanostomie, bei der die Ureteren mit einem Stoma in der Bauchhaut verbunden werden. Indikationen sind fehlende anatomische Voraussetzungen für eine natürliche Harnableitung bei sehr alten oder multimorbiden Patienten oder eine sehr begrenzte Prognose.

Das Ileum-Conduit war seit den 1950er Jahren die Standard-Harnableitung (Bricker 1950) und wird auch heute noch häufig angewandt. Dabei wird ein Pouch aus terminalem Ileum gebildet, der abdominell zwischen den Ureteren und der Haut liegt. Diese inkontinente Form der Ableitung findet häufig bei palliativen Therapieansätzen oder bei multimorbiden Patienten Anwendung.

Eine kontinente Harnableitungsform ist die orthotope Neoblase, die mittlerweile als erste Wahl des Blasenersatzes gilt. Dabei wird ein Segment des terminalen Ileums zu einem blasenförmigen Reservoir umgestaltet und anschließend mit Ureteren und Harnröhre verbunden. Damit ist eine sichere und verlässliche Harnableitung möglich, für den Patienten ist es der natürlichste Blasenersatz (Stenzl 1999), was mit einer höheren Lebensqualität einhergeht. Allerdings ist

von Seiten des Patienten eine hohe Compliance nötig, um den Umgang mit der Neoblase zu lernen und zu meistern.

1.1.6.2.3. Neoadjuvante Chemotherapie

Blasenkarzinome zeigen eine hohe Ansprechrate auf Chemotherapeutika, vornehmlich Kombinationsregime mit Cisplatin. Da die Ergebnisse nach alleiniger operativer Versorgung mit 5-Jahres-Überlebensrate von 50% nicht zufriedenstellend sind, wurde in mehreren Studien eine neoadjuvante Chemotherapie evaluiert. Dabei wurde eine Verbesserung der 5-Jahres-Überlebensrate um 5-7% durch eine neoadjuvante Chemotherapie mit Cisplatin-Kombination festgestellt. Bei allen Patienten mit ausreichender Nierenfunktion und gutem Allgemeinzustand kann folglich eine neoadjuvante Chemotherapie in Erwägung gezogen werden.

1.1.6.2.4. Blasenerhaltende Therapieansätze

Eine Alternative zur radikalen Zystektomie bei ausgesuchten Patienten kann die multimodale Therapie sein mit einer Kombination aus TUR, Bestrahlung und Chemotherapie (Shipley et al. 2002). Damit kann bei 60-80% der Patienten eine Komplettremission erreicht werden, was den Ergebnissen des chirurgischen Ansatzes nahekommt. Auch die mittlere Überlebenszeit ist vergleichbar, allerdings bleibt die Blase immer potenzielle Rezidivquelle. Eine alleinige Radio- oder Chemotherapie ist keine kurative Option bei muskelinvasiven Blasenkarzinomen.

1.1.6.3. *Metastasierte Blasenkarzinome*

Bei 10-15% der Patienten bestehen bereits zum Diagnosezeitpunkt Fernmetastasen (Rosenberg et al. 2005), die durchschnittliche Überlebenszeit wird mit 12 Monaten beziffert. Da Harnblasenkarzinome äußerst chemosensitiv sind, können hiermit auch bei metastasierten Karzinomen gute Ergebnisse erzielt werden. Wesentliche Kriterien für die Auswahl des Therapieregimes sind der Allgemeinzustand des Patienten (Karnofsky-Index), das Vorhandensein von viszeralen Metastasen und die Nierenfunktion, die den Einsatz von Cisplatin beschränkt. Standardkombinationen in der First-line-Therapie sind M-VAC

(Methotrexat, Vinblastin, Adriamycin und Cisplatin) und GC (Gemcitabin und Cisplatin). Die durchschnittliche Lebensverlängerung ist bei beiden Regimen vergleichbar (14,8 bzw. 13,8 Monate) (von der Maase et al. 2005). Bei Patienten, die nicht mit Cisplatin behandelt werden können, sind Kombinationsregime mit Carboplatin indiziert.

1.1.7. Prognose

Nicht-muskelinvasive Harnblasenkarzinome haben mit einer 5-Jahres-Überlebensrate (5-JÜR) von 76% eine relativ gute Prognose (Madersbacher et al. 2003). Nach erfolgter TUR ist hier dem Follow-up der Patienten besondere Bedeutung zuzumessen, da im Verlauf immer das Risiko einer Progression oder eines Rezidivs besteht. Wichtigster prognostischer Faktor ist hierbei das Ergebnis der Kontrollzystoskopie 3 Monate nach TUR. Bei Patienten mit initial niedrigem Risikopotential treten häufig auch gut differenzierte Rezidive in niedrigem Tumorstadium auf, während bei high-risk Patienten eher invasive Karzinome im Verlauf möglichst früh erkannt werden müssen. Es wird geschätzt, dass 50-80% der Patienten innerhalb von 5 Jahren ein Rezidiv entwickeln und bei 10-30% eine Progression festgestellt werden muss (Nguyen et al. 2008).

Bei muskelinvasiven Urothelkarzinomen ist die Prognose abhängig von Tumorstadium und Lymphknotenbefall, dies sind die einzigen unabhängigen Prädiktoren des Survivals (Bassi et al. 1999). Im Stadium pT2 ist die 5-JÜR 74%, bei pT3-Tumoren 52% und im Stadium pT4 nur noch 36% (Madersbacher et al. 2003). Damit ist die Prognose deutlich schlechter und zeigt eine höhere Mortalitätsrate als bei nichtinvasiven Karzinomen. Die Heilungsrate ist dennoch hoch, solange die Neoplasie auf die Blase begrenzt ist, keine Metastasierung in regionale Lymphknoten stattgefunden hat und eine adäquate Therapie frühzeitig eingeleitet wurde. So liegt der Anteil der Patienten, die 5 Jahre nach radikaler Zystektomie rezidivfrei sind bei 58% (Shariat et al. 2006b). Die Behandlung von Patienten mit T4-Stadium bleibt eine klinische Herausforderung (Merseburger und Kuczyk 2007), die therapeutischen Ansätze scheinen oft unzureichend.

1.2. Nichtinvasive Urindiagnostik

Den größten Einfluss auf die Diagnostik und Therapie in den letzten Jahrzehnten hatte die Entwicklung von Zystoskopie und Bildgebungsverfahren. Sie sind die Eckpunkte der Diagnostik (Stenzl 2009). Die Zystoskopie ist hochsensitiv für fast alle Tumoren und gilt nach wie vor als Goldstandard in der Abklärung und dem Follow-up von Harnblasenkarzinomen. Trotz der technischen Weiterentwicklung bleibt sie jedoch eine invasive Maßnahme mit entsprechenden Komplikationen, ist für Patienten unangenehm und ist nicht selten mit Angst verbunden. Zudem ist die Zystoskopie durch hohe Untersuchungszahlen im Follow-up mit enormen Kosten verbunden. Ihre Schwächen zeigt die Zystoskopie bei der Detektion von flachen, kleinen Tumoren oder CIS (Budman et al. 2008).

Die Urinzytologie wird in Kombination mit der Zystoskopie angewandt. Sie ist hochspezifisch, mit einer guten Sensitivität bei high-grade Tumoren und gerade auch bei Carcinomata in situ. Bei gut differenzierten Tumoren ist ihre Sensitivität gering, so kann sie weder die Zystoskopie ersetzen, noch die Intervalle zwischen den Untersuchungen verlängern (Budman et al. 2008).

Um eine Alternative zur invasiven Zystoskopie und der wenig sensitiven Zytologie zu finden, wurden mehrere Biomarker für die Detektion von Urothelkarzinomen untersucht. Der optimale Marker sollte nichtinvasiv, einfach anzuwenden und kostengünstig sein. Zudem ist Voraussetzung, dass er hochspezifisch und hochsensitiv ist. Als Untersuchungsmaterial bietet sich beim Urothelkarzinom besonders die Urinprobe an, da sie einfach, nichtinvasiv und in ausreichenden Mengen gewonnen werden kann und mögliche Marker in abgeschilferten Tumorzellen nachgewiesen werden können.

In den letzten Jahren wurden folglich über 20 uringebundene Biomarker untersucht. Einige davon wurden von der FDA (US Food and Drug Administration) zugelassen, sind kommerziell erhältlich und werden in der Diagnostik eingesetzt. Am Verbreitetsten sind: ImmunoCyt/uCyt+, BTA-stat,

BTA-TRAK, NMP22, NMP22-BladderChek und UroVysion. Diese Tests sollen im Folgenden kurz vorgestellt werden.

Im Rahmen dieser Arbeit sind die Urinmarkertests ImmunoCyt/uCyt+, NMP22 und UroVysion zur Anwendung gekommen, desweiteren wurde die Urinzytologie untersucht.

1.2.1. Urinmarkertests

1.2.1.1. ImmunoCyt/uCyt+

In dem Immunfluoreszenztest ImmunoCyt/uCyt+ werden spezielle monoklonale Antikörper eingesetzt, die mit Fluoreszenzfarbstoffen gefärbt sind. Diese Antikörper binden spezifisch an ein Mucin-Glycoprotein und an carcinoembryonales-Antigen (CEA), welche als Tumorantigene für verschiedene Bläsentumorzellen gelten (Bergeron et al. 1996a/b). Seine Stärke zeigt der uCyt+-Test vor allem in der Detektion von niedrigmalignen Tumoren (Sullivan et al. 2009; Budman et al. 2008). Die Durchführung des Tests ist technisch einfach, erfordert allerdings ein gewisses Maß an Expertise und Ausrüstung. Die Auswertung am Fluoreszenzmikroskop kann schwierig zu interpretieren sein und ist zum Teil untersucherabhängig. Mögliche Ursache könnte eine Veränderung des Zellbildes durch Harnwegsinfekte oder eine Hämaturie sein (Sullivan et al. 2009). Auch eine Beeinflussung durch eine benigne Prostatahyperplasie wurde berichtet (Herman et al. 2008).

Der vom Hersteller DiagnoCure (DiagnoCure Inc., Sainte-Foy, Canada) auf den Markt gebrachte Test ist nur zugelassen in Kombination mit der Urinzytologie.

1.2.1.2. BTA-Tests

Auf dem Markt sind zwei Biomarker-Tests erhältlich, die das ‚bladder tumor antigen‘ (BTA) nachweisen. Zum einen der rein qualitative Nachweistest BTA-Stat (=signal transducer and activator of transcription), zum anderen der BTA-TRAK, ein ELISA zur quantitativen Messung von BTA. Beide Tests werden vom Hersteller Polymedco, Redmond, USA angeboten. Die Messung erfolgt über den Einsatz von Antikörpern, die erhöhte Werte an CFHrp (complement factor

H related protein) in der Probe nachweisen (Budman et al. 2008). In mehreren Studien haben sich die BTA-Tests als sensitiver, aber weniger spezifisch als die Urinzytologie gezeigt (Halling et al. 2002). Dies mag unter anderem an der hohen Rate falsch-positiver Ergebnisse aufgrund einer Irritation der Blasenwand durch Harnwegsinfekte, Steinleiden, Fremdkörper oder mechanische Manipulation liegen (Sharma et al. 1999).

1.2.1.3. *NMP22*

NMP (nuclear matrix proteins) sind Proteine, die wichtige zelluläre Prozesse regulieren und eine Rolle in der DNA-Transkription spielen. Sie sind ein Teil des NuMA (nuclear mitotic apparatus protein) (Chiong et al. 2008). Mehrere NMPs dienen als Biomarker für unterschiedliche Tumorentitäten, wie Karzinome der Prostata, Brust, Knochen oder auch des Kolons, da das jeweilige organspezifische NMP in malignem Gewebe in etwa 10fach höherer Konzentration vorkommt als in gesundem Gewebe (Getzenberg 1994).

Der Nachweis von NMP22 zur Detektion eines Harnblasenkarzinoms gelingt mittels des Einsatzes von Antikörpern in einem ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). Von dem Hersteller Matritech sind zwei Testformen für NMP22 erhältlich: der NMP22 bladder check, ein Schnelltest, der ein rein qualitatives Ergebnis liefert und das NMP22 Test Kit, das die quantitative Bestimmung von NMP22 ermöglicht.

Der Test zeichnet sich aus durch seine einfache und praktische Handhabung, hohe Vergleichbarkeit und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse und Kostengünstigkeit (Nguyen et al. 2008). Schwachstellen sind eine suboptimale Sensitivität und vor allem eine hohe Anfälligkeit für falsch-positive Ergebnisse (Friedrich et al. 2003). Als Ursachen dafür stehen Harnwegsinfekte, Urolithiasis, Fremdkörper, Neoblasen, intravesikale Therapien, mechanische Manipulationen wie Zystoskopien und das Vorhandensein anderer Tumorentitäten im Verdacht (Ponsky et al. 2001; Shariat et al. 2006a).

1.2.1.4. *UroVysion*

Der UroVysion-Test bedient sich des Nachweises chromosomaler Aberrationen in abgeschilferten Zellen von Urothelkarzinomen. Die im Urin enthaltenen Zellen werden einer Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) zugeführt.

Der Test UroVysion besteht aus insgesamt 4 DNA-Sonden, die Aneuploidien der Chromosomen 3,7 und 17 und den Verlust des Locus 9p21 detektieren und diese mit 4 verschiedenen Farben darstellen, wobei auch quantitative Angaben über die Kopienzahl der Chromosomen gemacht werden können. Die früheste und häufigste genetische Aberration beim Blasenkarzinom ist der Verlust des Genlocus 9p21 (Budman et al. 2008).

Die Durchführung des Tests, der vom Hersteller Abbott angeboten wird, ist aufwändig und abhängig von hochqualifiziertem Personal und teurer Ausstattung. Er ist für hohe Durchsätze nicht geeignet. Der UroVysion zeigte in früheren Studien eine relativ hohe Sensitivität und Spezifität, vor allem in Verbindung mit entzündlichen Veränderungen des Urothels (Sullivan et al. 2009). Da der Test auf molekularem Level arbeitet, scheint er von benignen Veränderungen unbeeinflusst zu bleiben. Die Ursache und Deutungsmöglichkeit dennoch vorhandener falsch-positiver Ergebnisse ist bisher nicht ausreichend geklärt (Budman et al. 2008).

1.2.1.5. *Hämaturie-Teststreifen*

Der Nachweis von Blut im Urin per Hämaturie-Teststreifen ist eine gängige, sehr günstige und breit verfügbare Methode. Fast alle Patienten mit Blasenkarzinom zeigen eine Hämaturie, allerdings liegt der Anteil der Hämaturie-Patienten, die ein Blasenkarzinom haben, bei unter 5%. Etwa 9-18% der Gesamtbevölkerung haben eine Mikrohämaturie, ein generelles Hämaturie-Screening ist folglich nicht sinnvoll. In welcher Weise ein Screening auf Hämaturie in die Diagnostik einbezogen werden kann im Hinblick auf eine frühere Diagnose von Blasenkarzinomen, ist noch nicht geklärt (Lotan et al. 2008).

1.2.1.6. *Weitere Biomarker*

Neben den bereits zugelassenen Biomarkern werden mehrere neue Marker als potenzielle Angriffspunkte beforscht. Hierzu gehört der BLCA-4, ein ELISA, der nukleäres mitotisches Apparatprotein detektiert.

Survivin heißt ein weiterer viel versprechender Marker. Das nachzuweisende Protein wirkt bei der Inhibition der Apoptose mit und ist in Tumorzellen deutlich erhöht. Der Marker könnte sowohl im Screening und der Überwachung beim Blasenkarzinom als auch als Angriffspunkt der Therapie eine Rolle spielen. Große Studien zu diesem Thema lassen allerdings noch auf sich warten (Margulis et al. 2008).

Der Test HA-HAase kombiniert die Detektion von Hyaluronsäure (HA) und des Enzyms Hyaluronidase (HAase), das Hyaluronsäure in kleine Oligosaccharidfragmente spaltet. Die quantitative Messung wird per ELISA durchgeführt (Campos-Fernandes et al. 2007).

1.2.2. **Einsatz von Urinmarkertests**

Die Anforderungen, die an einen Test gestellt werden müssen, hängen unter anderem wesentlich davon ab, in welcher klinischen Situation der Einsatz erfolgen soll. Für die Urinmarkertests für das Harnblasenkarzinom unterscheiden sich dabei:

- Der Einsatz in der Erstdiagnostik bei Patienten, die noch nie an einem Harnblasenkarzinom erkrankt waren und beispielsweise aufgrund einer Hämaturie erstmals vorstellig werden
- Der Einsatz in der Überwachung von Patienten, die nach erfolgreicher Therapie eines Urothelkarzinoms auf Rezidive hin untersucht werden

Für die erste Gruppe ist ein Test sinnvoll, der einen hohen positiven prädiktiven Wert hat und hochspezifisch ist für maligne Veränderungen (Goebbel et al. 2008). Wichtig ist hier die frühzeitige Erkennung vor allem hochmaligner Tumoren, was die Prognose entscheiden mitbestimmt. Für alle gängigen Tests

ist die Spezifität allerdings eingeschränkt aufgrund falsch-positiver Ergebnisse, deren Ursachen nicht eindeutig geklärt sind (Lokeshwar et al. 2005). Hierzu fehlen noch ausreichend große Studien.

In der Rezidivdiagnostik und Überwachung ist vorrangiges Ziel, möglichst alle Tumoren frühzeitig zu erkennen. Hier spielt also eine hohe Sensitivität und im Umkehrschluss der negative prädiktive Wert eine tragende Rolle. Hauptproblem sind hier falsch-positive Ergebnisse (Têtu 2009).

Vor allem nach niedrigmalignen Urothelkarzinomen ist ein aufmerksames Follow-up der Patienten notwendig, um Rezidive frühzeitig zu erkennen. Die dazu notwendigen Zystoskopien sind allerdings aufwändig, teuer, invasiv und für den Patienten unangenehm. Deshalb geht die Tendenz von Patienten und auch behandelnden Ärzten dazu, die Intervalle zwischen den einzelnen Untersuchungen möglichst lang auszudehnen (Stenzl et al. 2008). Ziel wäre nun, einen Urinmarker oder eine Markerkombination zu identifizieren, die es erlaubt, durch sicheren negativen prädiktiven Wert die Intervalle zwischen den einzelnen Zystoskopien zu verlängern (Schmitz-Dräger et al. 2007). Denkbar wäre eine Kombination mehrerer Marker, die eine hohe Sensitivität bietet. Um ein Absinken der Spezifität zu vermeiden, wäre es sinnvoll, mögliche Ursachen falsch-positiver Ergebnisse zu kennen und damit einschätzen oder eliminieren zu können (Horstmann et al. 2009). Dazu fehlen allerdings noch ausreichend große Studien.

1.3. Fragestellung

Über die diagnostische und therapeutische Konsequenz positiver Testergebnisse der Urinmarker ist keine allgemeine Empfehlung vorhanden (Schmitz-Dräger et al. 2007). Bisherige Studien zeigten im Vergleich zur Zytologie eine bessere Sensitivität, aber häufig eine geringere Spezifität der Tests (Campos-Fernandes et al. 2007). Es wird vermutet, dass dies am Einfluss von Störfaktoren liegen könnte, mehrere mögliche Auslöser wurden bereits beschrieben (Sanchez-Carbayo et al. 2001). Auch für die bekannter weise häufig vorhandenen falsch-negativen Testergebnisse muss eine mögliche

Relation zu den potenziellen Störfaktoren als Ursache in Betracht gezogen werden.

Ein möglicher Störfaktor für Urinmarkertests ist die Makrohämaturie, die zu den ersten klinischen Zeichen eines Urothelkarzinoms gehört und häufig als wichtiges Symptom zu einer diagnostischen Abklärung führt (Friedman et al, 1996). Bei Patienten mit Makrohämaturie wird ein gehäuftes Auftreten falsch-positiver Ergebnisse der Urinmarker diskutiert (Atsü et al. 2002). Welcher Test in welcher Ausprägung von einer Hämaturie beeinflusst wird, ist bisher nicht bekannt.

Ebenso steht ein florider Harnwegsinfekt im Verdacht, Einfluss auf das Testergebnis zu nehmen (Budman et al, 2008). In einigen Studien zu Biomarkern wurde der Harnwegsinfekt folglich als Ausschlusskriterium definiert, auch wenn von Seiten der Hersteller keine Anwendungsbeschränkung vorgegeben wird (Drapier et al. 2003). Eine Überprüfung des Einflusses eines Harnwegsinfekts auf das Testergebnis scheint aufgrund der geringen Datenlage zu diesem Thema daher sinnvoll.

Die Art und Invasivität der Uringewinnung wurden bisher hinsichtlich ihres Effekts auf das Testergebnis nicht ausreichend untersucht. Für manche Tests wird zwar die Durchführung in einem Zeitraum nach invasiven Verfahren wie einer Zystoskopie nicht empfohlen. Wie sich aber die direkte invasive Urinprobenentnahme auf das Testergebnis auswirkt, kann derzeit noch nicht beantwortet werden.

Mit der vorliegenden Arbeit soll Einfluss der potenziellen Störfaktoren Hämaturie, Harnwegsinfekt sowie die Invasivität der Probengewinnung auf die vier Biomarker NMP22, uCyt+, Urovysion und die Urinzytologie untersucht werden. Dabei wird deren Aussagekraft in Abhängigkeit vom Vorhandensein der Faktoren geprüft, wobei die parallel erfolgte Zystoskopie als Kontrollparameter dient.

Folgende Fragestellungen sollen in der vorliegenden Arbeit bearbeitet werden:

-
- Hat das Vorliegen einer Hämaturie einen Einfluss auf das Ergebnis der untersuchten Tests Urinzytologie, NMP22, uCyt+ und UroVysion?
 - Hat das Vorliegen einer Harnwegsinfekts einen Einfluss auf das Ergebnis eines der untersuchten Tests?
 - Hat die Invasivität der Urinprobengewinnung einen Einfluss auf das Ergebnis eines der untersuchten Tests?

2. Material und Methoden

2.1. Patientenkollektiv

Grundlage der vorliegenden Arbeit bildete ein Kollektiv von Patienten, bei denen im Zeitraum von 01/2005 bis 02/2009 an der Universitätsklinik für Urologie Tübingen mindestens eine der zu evaluierenden Urinuntersuchungen durchgeführt wurde. Patienten, bei denen einer oder mehrere der Tests zu verschiedenen Zeitpunkten wiederholt wurden, wurden zu allen Zeitpunkten der Tests erfasst. Die Recherche ergab ein Kollektiv von insgesamt 3686 Patienten. Aus dieser Gruppe wurde anhand der Einschluss- und Ausschlusskriterien das endgültige Untersuchungskollektiv rekrutiert.

2.1.1. Rekrutierung der Patienten

Es wurden die jeweiligen Krankenakten der Patienten gesichtet, um genauere Informationen über deren Verlauf zu erhalten. Dabei wurde ein Untersuchungskollektiv für die vorliegende Arbeit nach den folgenden Kriterien zusammengestellt.

2.1.1.1. *Einschlusskriterien*

Eingeschlossen in die Studie wurden all diejenigen Patienten aus dem Gesamtkollektiv, bei denen

- mindestens eine der zu evaluierenden Untersuchungen im oben beschriebenen Zeitraum durchgeführt worden ist
- das Ergebnis des parallel zu den Urinmarkertests durchgeführten Urinstatus (Leukozyten und Erythrozyten im Urin sowie Nitrit im Urin) vorlag
- das eindeutige Ergebnis einer darauf zeitnah erfolgten Zystoskopie mit eventueller Gewebegewinnung und durchgeführter Histologie vorlag.

2.1.1.2. *Ausschlusskriterien*

Um andere Störfaktoren zu eliminieren, die möglicherweise einen Einfluss auf das Testergebnis haben könnten, wurden Patienten aus der Studie ausgeschlossen

- die in der Vorgeschichte mit einer Neoblase versorgt worden waren
- bei denen in der Harnblase ein Tumor vorhanden war, der histologisch nicht einem Urothelkarzinom entsprach, wie beispielsweise lokal infiltrierende Prostatakarzinome

Zudem wurden Patienten aus der Untersuchung ausgeschlossen, bei denen einheitliche Bedingungen nicht erfüllt waren. Nicht berücksichtigt wurden solche Patienten, bei denen

- die Urinprobe, die als Untersuchungsmaterial für die Urinmarkertests entnommen wurde, in ihrer Abnahmetechnik nicht eindeutig deklariert war oder keiner der unten definierten Gruppen zuzuordnen war
- das Ergebnis der Zytologie nicht auswertbar oder nicht eindeutig war
- das Ergebnis der Histologie nicht aussagekräftig oder nicht eindeutig war

2.2. Ablauf der Untersuchungen

2.2.1. Uringewinnung

Bei der Uringewinnung waren generell 2 unterschiedliche Entnahmeorte zu differenzieren. Einerseits die Probe aus dem oberen Harntrakt, welche aus dem Nierenbecken oder den Harnleitern entnommen wurde. Andererseits die Probe aus dem unteren Harntrakt, sei es direkt aus der Harnblase oder per Miktion gewonnener Urin.

2.2.1.1. Uringewinnung aus dem oberen Harntrakt

Im Rahmen von Ureterorenoskopien wurde direkt aus den Nierenbecken oder dem Harnleiter Urin für die Untersuchungen entnommen. Dabei wurde zwischen Spülurin und Punktionsurin unterschieden. Für die Gewinnung von

Spülurin des oberen Harntrakts wird über das Zystoskop eine retrograde Spülung der Harnleiter und des Nierenbeckens mit 10-20ml isotoner Kochsalzlösung vorgenommen und die Spülflüssigkeit anschließend gesammelt. Punktionsurin wird durch direkte transkutane Punktion des Nierenbeckens unter Sonographiekontrolle entnommen.

2.2.1.2. *Uringewinnung aus der Harnblase*

Im Falle von Urin aus der Harnblase wurden unterschiedliche Techniken der Gewinnung angewandt. Spontanurin wird durch Miktion auf natürlichem Wege gewonnen, wobei in der vorliegenden Arbeit nicht zwischen Erststrahl- und Mittelstrahlurin unterschieden worden ist. Aufgrund der zeitlichen Eingrenzung der Probengewinnung im Rahmen eines Ambulanzbesuches konnte sichergestellt werden, dass der Untersuchung keine Proben mit Morgenurin zugeführt wurden. Bei der Gewinnung von Katheterurin wird ein Zystofix-Katheter über die Harnröhre in die Blase eingelegt und darüber wird schließlich eine Harnprobe entnommen. In der vorliegenden Arbeit wurde nicht zwischen Dauerkathetern und Einmalkatheterisierung unterschieden. Spülurin aus der Blase erhält man durch Einlage eines Katheters in die Blase, der nachfolgend an ein Spülsystem mit isotoner Kochsalz- oder Ringerlösung angeschlossen wird, woraus sich dann die Probe gewinnen lässt. Im Falle von Exprimaturin wird eine massierende Prostatapalpation durchgeführt und danach die Probe auf natürlichem Wege durch Miktion gewonnen, wodurch sich in der Probe eine Konzentration von Prostatasekret findet.

2.2.1.3. *Definition des potenziellen Einflussparameters ‚mechanische Manipulation bei Uringewinnung‘*

Im Falle der Urinentnahme aus der Harnblase wurde definiert, dass die Entnahmeformen *Katheterurin Blase*, *Spülurin Blase* und *Exprimaturin Blase* als Methoden mit mechanischer Manipulation gewertet werden. Keine mechanische Manipulation wurde mit *Spontan- oder Mittelstrahlurin Blase* verbunden.

Bei der Urinentnahme aus dem oberen Harntrakt galten der *Punktionsurin Nierenbecken* sowie der *Katheterurin Nierenbecken/Harnleiter* als nicht-invasiv gewonnen. Bei der Entnahme von *Spülurin* aus dem oberen Harntrakt ist von einer Manipulation auszugehen.

2.2.2. Urinfixation

Die Fixierung und Konservierung der Urinproben erfolgte unmittelbar nach deren Entnahme und unterschied sich je nach durchzuführendem Test.

2.2.2.1. *Fixierung nach Esposti*

Für Zytologie und Fluoreszenz-In-Situ-Hybridisierung wurde der Urin unmittelbar nach Entnahme im Verhältnis 1:2 mit Esposti-Fixativ versetzt und leicht geschüttelt. 100ml der Esposti-Lösung setzten sich dabei zusammen aus 10ml Essigsäure 100% (Eisessig), 48ml Methanol und 42ml Aqua dest. Die in dieser Weise fixierten Suspensionen können bei 2-4°C für eine Woche gelagert werden.



Abb. 3: Urinbecher mit Espostifixerter Urinprobe

2.2.2.2. *Fixierung für NMP22-Test*

Für den NMP22-Test wurde die Urinprobe sofort nach der Entnahme in ein Röhrchen verbracht, in das Matritech NMP22 Urine Stabilizer bulk vorgelegt war, die Mischung erfolgte im Verhältnis 1:10. Aus dem so stabilisierten Urin

wurden anschließend Präzipitate entfernt, indem die Probe über 15 Minuten in Plastikröhrchen bei 750xG zentrifugiert wurde (Hettich Rotanta 96R Zentrifuge). Die Probe wurde bis zur Testdurchführung im Verlauf der folgenden Woche bei 2-8°C aufbewahrt.

2.2.2.3. *Fixierung für ImmunoCyt/uCyt+*

Für den ImmunoCyt-Test ist ein Fixativ im Testkit des Herstellers enthalten und wurde nach Angaben desselben verwendet. Nach der Probengewinnung wurden 20-40ml Urin im Verhältnis 1:2 mit 50%igem Ethanol vermischt und ins Labor versandt. Dort wurde dem Urin-Alkohol-Gemisch 1ml der im Testkit enthaltenen Fixationslösung zugegeben. Diese besteht aus einem Puffer und Polyäthylenglycol (PEG), aufgelöst in entmineralisiertem Wasser. Die fixierte Probe kann für 7 Tage bei 2-8°C aufbewahrt werden bevor sie dem Test zugeführt wird.

2.2.3. **Durchführung der Tests**

2.2.3.1. *Zytologie*

Die Urinzytologie in der Diagnostik des Harnblasenkarzinoms ist bekannt seit Mitte des 19. Jahrhunderts (Lambl 1856), in der Routinediagnostik wird sie angewandt seit etwa 1950. Bei diesem Verfahren können mittels Färbung und anschließender Mikroskopie die im Urin befindlichen Zellen morphologisch beurteilt werden.

Im ersten Schritt der Präparatherstellung wurde die Esposti-fixierte Urinprobe konzentriert. Die Zellanreicherung ist ein wesentlicher Teil der Aufarbeitung, um ausreichend Zellmaterial für die Beurteilung zur Verfügung zu haben. Zu Beginn wurde die Probe in Rundhalsglasröhrchen gefüllt und mittels einer Zentrifuge Hettich Rotanta 96R bei 800 Umdrehungen für 12 Minuten zentrifugiert (600xG). Dann wurde der Überstand aus den Rundhalsglasröhrchen abdekantiert auf ein Restvolumen von etwa 2-3 ml und die Probe wurde erneut aufgeschüttelt. Bei der anschließenden Zytozentrifugation wurden die Zellen auf einer kleinen Fläche des Objektträgers

(R.Langenbrinck, Emmendingen) konzentriert. Dazu wurden 600-800µl des aufgerührten, eingedickten Urins in einen Füllkontainer pipettiert und zusammen mit einem Filterpapier und einem Objektträger in die Zytozentrifuge CytoSpin2 des Herstellers Shandon (Shandon Labortechnik GmbH, Frankfurt) eingespannt und mit 1500 Umdrehungen für 3 Minuten zentrifugiert.



Abb. 4: Arbeitsmaterialien für die Urinzytologie: von links nach rechts: vorgelegtes Espostifixativ, Halterung für Zytospin-Zentrifuge, Superfrost Objektträger

Die so entstandenen Sedimentpräparate wurden auf den Objektträgern mittels Merckofix Fixationsspray (Merck KGaA, Darmstadt) in noch feuchtem Zustand fixiert, luftgetrocknet und bis zur Weiterbearbeitung so belassen. Die Färbung nach Papanicolaou ist die Standardfärbung in der urologischen Zytologie, da sie im Vergleich zu anderen Färbeverfahren hervorragende Ergebnisse liefert (Papanicolaou 1945). Es wurde dafür ein Färbeautomat Shandon Elliot (Shandon Labortechnik GmbH, Frankfurt) eingesetzt, der die folgenden Schritte automatisiert übernimmt. Nach der Ablösung des Fixationsfilms über 30 Sekunden in 30%iger Ethanol-Lösung und der Spülung mit destilliertem Wasser wurden die Objektträger für 2 Minuten in Harris' Hämatoxylin-Lösung (Papanicolaou-Lösung I) gegeben. Einer erneuten Spülung folgte ein zweimaliges kurzes Eintauchen in 0,25%iger wässriger Salzsäure und wiederum 5 Minuten Spülung mit Leitungswasser. Nun wurden die Präparate in einer aufsteigenden Alkoholreihe dehydriert und danach für 3 Minuten mit

Orange-G-Lösung (Papanicolaou-Lösung II) gefärbt. Mit 96%igem Äthanol wurden die Proben gespült und schließlich mit polychromer Lösung (Papanicolaou-Lösung IIIb) für 3 Minuten eingefärbt. Nach einer weiteren Spülung in 96%igem Äthanol wurden die Präparate für 1 Minute in ein Äthanol-Xylol-Gemisch (im Verhältnis 1:1) gegeben und zuletzt 2 Minuten in Xylol gespült. Die gefärbten Präparate wurden schließlich mit einem Deckglas versehen und der morphologischen Befundung zugeführt.

Die morphologische Befundung an einem Zeiss Olympus Mikroskop mit den Vergrößerungen 160x und 400x erfolgte anhand standardisierter Malignitätskriterien (Rathert und Roth 2007). Als Malignitätskriterien sollen beispielhaft genannt werden: eine Verschiebung der Kern-Plasma-Relation, Prominenz und Irregularität der Kernmembran, Chromatinvermehrung des Zellkerns, Grobkörnigkeit des Chromatins, Vermehrung und Entrundung der Nukleolen und Polymorphie der Zellkerne (Rathert und Roth 2007). Die Diagnose ergibt sich aufgrund der großen Variabilität des zytologischen Bildes immer aus der Ansicht mehrerer Kriterien und richtet sich nicht nach einer einzigen Auffälligkeit. Eine Einteilung der pathologischen Veränderungen in drei Differenzierungsstufen (G1-G3) kann unternommen werden. In Anlehnung an die WHO-Klassifikation von 2004 wird die Beurteilung allerdings begrenzt auf positive, verdächtige und negative Ergebnisse (Murphy 2006). Im Falle eines zytologischen Bildes, das einer high-grade Läsion entspricht wurde das Ergebnis der Zytologie als positiv bewertet. Konnten zwar Auffälligkeiten nachgewiesen werden, die allerdings nicht als eindeutig maligne zu werten waren oder die am ehesten einer low-grade Läsion entsprechen, wurde die Zytologie als suspekt oder kontrollbedürftig klassifiziert. Bei eindeutig unauffälligen Präparaten ohne Nachweis von pathologischen Zellen wurde ein negatives Ergebnis festgehalten.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden alle malignen Befunde sowie alle suspekten und alle kontrollbedürftigen Ergebnisse als positives Testergebnis klassifiziert, während nur eindeutig unauffällige Befunde als negativ in der Zytologie eingruppiert wurden.

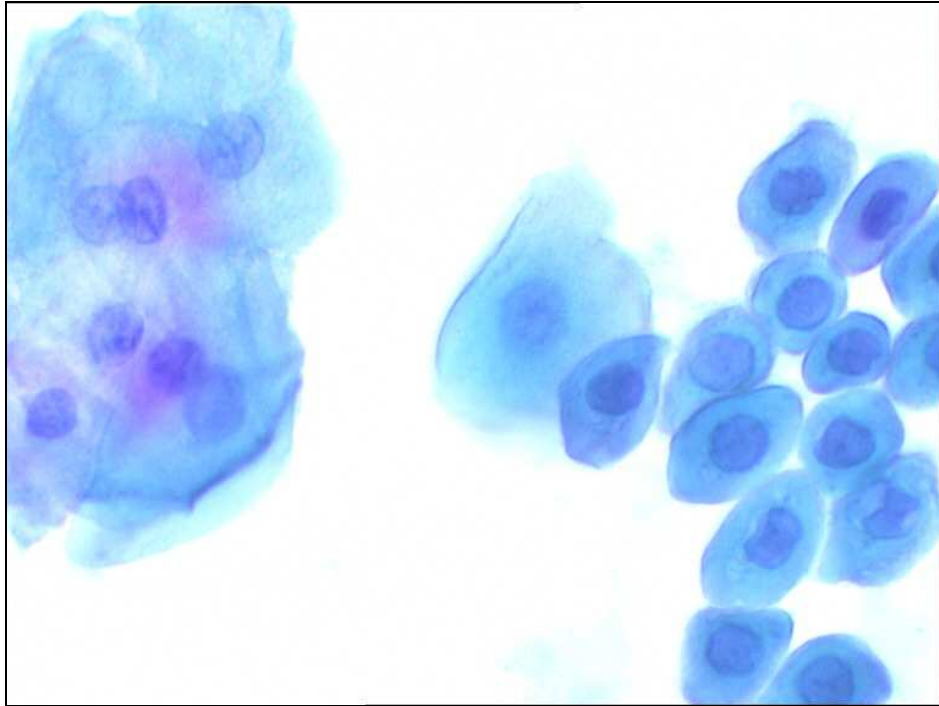


Abb. 5: Urinzytologie. Darstellung von unauffälligen Urothelien in der mikroskopischen Betrachtung, Vergrößerung 400x.

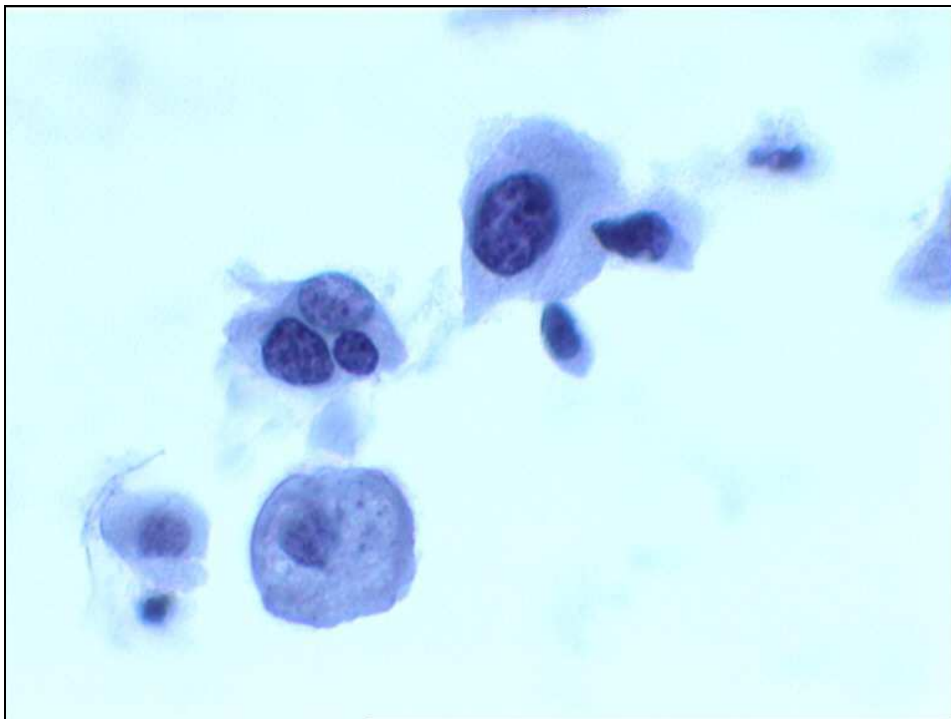


Abb. 6: Urinzytologie. Darstellung von Tumorzellen eines Urothelkarzinoms in der mikroskopischen Betrachtung, Vergrößerung 400x.

2.2.3.2. NMP22

In dieser Studie wurde der NMP22 Test Kit des Herstellers Matritech (Matritech GmbH, Freiburg) eingesetzt. Das Test Kit enthält mononukleale Antikörper, die an in der Probe enthaltenes NMP22 binden. Die so gebundenen Antikörper werden mittels einer Färbelösung markiert und können schließlich photometrisch quantifiziert werden.

Zu Beginn der Tests wurden Reagenzien und Probe auf Raumtemperatur gebracht. Im Folgenden wurden nach Anweisung des Herstellers die verschiedenen benötigten Lösungen hergestellt sowie die Standards und Kontrollen vorbereitet.

Vor der Durchführung des Assays wurde die im Testkit enthaltene Streifenplatte automatisch in einem Waschautomaten Opsys MW (Dynex Technologies GmbH, Berlin) dreimal mit Waschlösung gewaschen, danach wurde die Waschlösung mit Filterpapier entfernt. Eine Streifenplatte besteht aus insgesamt 96 Kavitäten (12 Streifen mit je 8 Vertiefungen), die mit mononuklealem-anti-NMP22 der Maus beschichtet sind. Ein Teil der Kavitäten ist dabei für Standardproben bestimmt, die der Erstellung der Standardkurve dienen. Weitere Kavitäten sind vorhanden für NMP22-enhaltende Kontrollproben. Die restlichen 82 Kavitäten können mit zu messenden Proben bestückt werden. In die je dafür vorgesehenen Kavitäten wurden nun 200µl von jedem Standard, jeder Kontrolle und Probe im Duplikat gegeben. Nach einer zweistündigen Inkubationszeit wurde der Teststreifen dreimal mit Waschlösung gewaschen und jeder Kavität wurden 200µl DIG-Anti-NMP22-Reagenz zugefügt. Der Inkubationzeit von einer Stunde folgte eine erneute dreimalige Waschung. Danach wurde pro Kavität 200µl HRP-SAD-Reagenz zugegeben und wieder für 30 Minuten inkubiert. Nach dreimaliger Waschung wurde die zwischenzeitlich hergestellte OPD-Lösung zugefügt (200µl pro Kavität). Diese Lösung bewirkt die für das Testergebnis ausschlaggebende Färbung der Probe. Die Herstellung der OPD-Lösung sowie die 30minütige Inkubation sollte im Dunkeln stattfinden, um die Färbereaktion nicht durch Lichteinflüsse zu stören. Die Farbentwicklungsreaktion wurde gestoppt durch Zugabe von 50µl 2M(4N)

H₂SO₄ Stopplösung pro Kavität, dem folgte eine Inkubationszeit von 10 Minuten. Schließlich wurde innerhalb von 30 Minuten mit einem Photometer (Anthos 2010, Anthos Mikrosysteme GmbH, Krefeld) die Absorption der Proben bei 490nm gemessen.

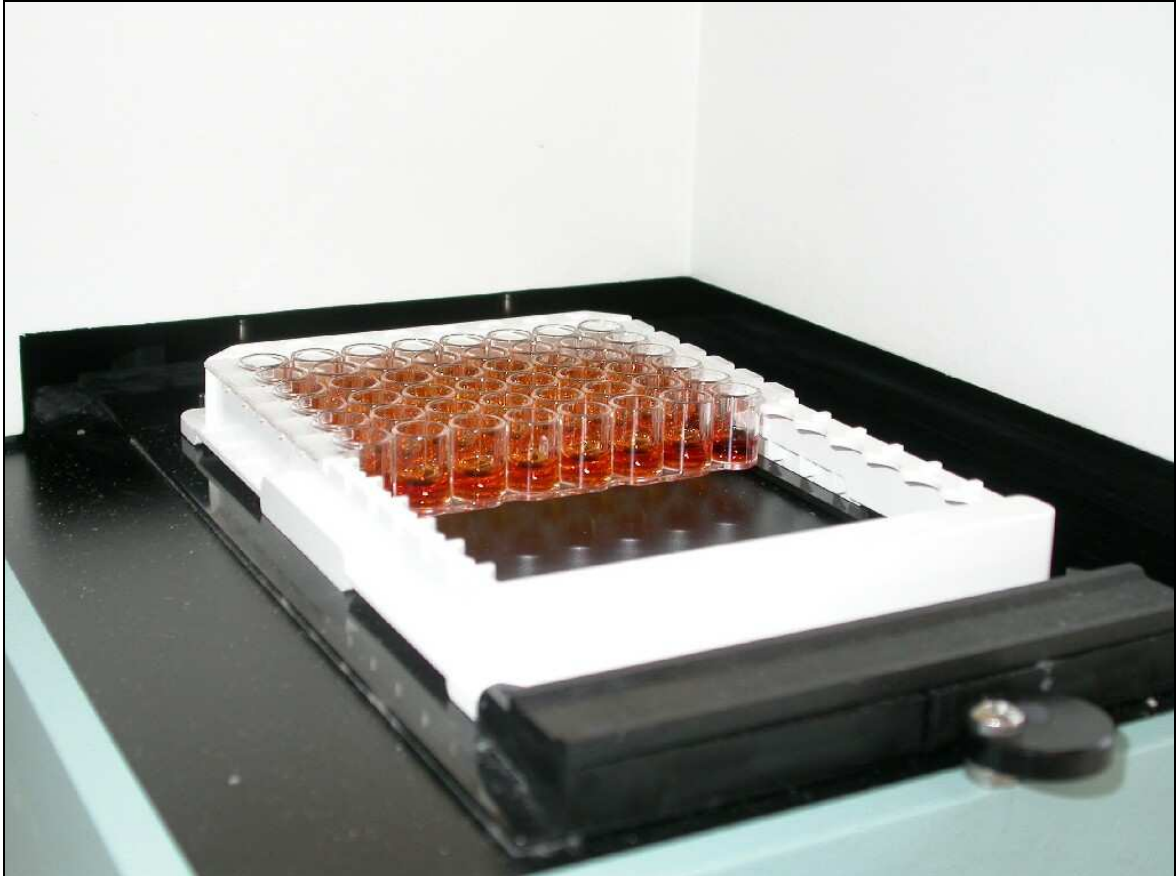


Abb. 7: Testdurchführung NMP22: ELISA Reader anthos 2010 bestückt mit einer halben Streifenplatte

Das quantitative Testergebnis wurde anhand einer Standardkurve ermittelt, welche für jeden Testlauf aus den Ergebnissen der Standardproben neu berechnet wurde. Dem Absorptionswert der Probe konnte so direkt eine Konzentration von NMP22 in U/ml zugeordnet werden.

Die erhaltenen Zahlenwerte wurden für die Auswertung in positive und negative Testergebnisse klassifiziert. In Anlehnung an die Empfehlungen des Herstellers

und der US Food and Drug Administration (Shariat et al, 2006a) wurden Werte <10 U/ml als „negativ“, Werte >10U/ml als „positiv“ eingestuft.

2.2.3.3. *ImmunoCyt/uCyt+*

Im Rahmen dieser Arbeit wurde der Test ImmunoCyt/uCyt+ des Herstellers DiagnoCure (DiagnoCure Inc., Sainte-Foy, Canada) eingesetzt. Es handelt sich um einen immunzytologischen Test, dem ein vom Hersteller vorgegebenes Testkit zugrunde liegt. Die mittels Antikörper gebundenen Antigene CEA und ein Mucin-Glycoprotein sind in der Fluoreszenzmikroskopie erkennbar.

Zur Durchführung des Tests wurden zu Beginn Präparate mit Positiv- und Negativkontrollen hergestellt. Dazu wurden je 20µl der gebrauchsfertigen Kontroll suspensionen aus dem Testkit auf Objektträger (SuperFrost/Plus, Langenbrinck, Teningen) aufgebracht, mit dem Fixationsspray Merckofix (Merck KGaA, Darmstadt) fixiert und anschließend 15 Minuten luftgetrocknet. Nun wurde die zu untersuchende Urinprobe auf Raumtemperatur gebracht und durch eine Filterspritze gepresst. Die verwendeten Filtermembranen (Nuclepore Track-Etch Membrane, Whatman) haben einen Durchmesser von 25mm und eine Porengröße von 8µm. Die Oberfläche des Filters wurde anschließend auf einen Objektträger abgeklatscht, das gewonnene Material ebenfalls mit dem Fixationsspray Merckofix besprüht und für 15 Minuten luftgetrocknet. Nun wurden Proben und Kontrollen gemeinsam in einer Objektträger-Halterung der Immunreaktion zugeführt. Die Vorbehandlung der Objektträger und Zellfärbung erfolgte in 9 Bädern (absteigende Ethanolreihe 80%-70%-50%-Wasser, Färbung mit Hämatoxylin + 4%iger Essigsäure für 20 Sekunden, Spülung in Wasser). Anschließend wurden auf jede Zellzone 150µl Blockierungslösung aus dem Testkit aufgebracht und 15 Minuten inkubiert. Die Blockierungslösung dient dazu, unspezifische Antikörperbindungsstellen vor der eigentlichen immunzytologischen Reaktion zu blockieren, um so unerwünschte Störfluoreszenzen zu verringern. Die ebenfalls im Testkit enthaltene Antikörper-Mischung wurde danach auf jeder Zellzone aufgebracht (je 150µl) und für weitere 60 Minuten in der feuchten Kammer inkubiert. Um eine ausreichende Farbintensität sicherzustellen wurden die Präparate im Folgenden vor

Lichteinstrahlung geschützt. Nach der Inkubation der Antikörperlösung wurden die Präparate mit PBS-Lösung (Phosphat-gepufferte Salzlösung, hergestellt nach Angaben des Herstellers) und PBS/Tween20-Lösung (Mischung von PBS mit 0,05% Tween20 Lösung von Atlas Chemical Industry) in mehreren Bädern gespült. Dann wurden die Objektträger mit Eindeckelungslösung eingedeckelt und der Beurteilung zugeführt.

Zur mikroskopischen Begutachtung wurde ein Zeiss Axioskop Fluoreszenzmikroskop verwendet mit den Vergrößerungen 20x und 40x. Kriterien der Beurteilung sind die Doppelfärbung mit roter und grüner Fluoreszenzfarbe – entsprechend den beiden nachzuweisenden Antigenen - sowie zusätzliche morphologische Kriterien. Über die Morphologie können solche Zellen im Präparat identifiziert werden, die nicht maligne sind und dennoch physiologisch Antigen enthalten wie beispielsweise Granulozyten oder gastrointestinale schleimbildende Zellen. Im Vergleich mit den parallel hergestellten Kontrollpräparaten kann die Variation der Farbintensitäten in der untersuchten Probe beurteilt werden. Nach Vorgaben des Herstellers ist der Test positiv, wenn mindestens eine grüne oder rote fluoreszierende epitheliale Zelle entdeckt wird, sofern das Präparat eine ausreichende Zahl von Zellen (mindestens 500) enthält.



Abb. 8: Fluoreszenzmikroskopie beim uCyt+-Test. Darstellung einer Zelle mit grüner (links) und roter (rechts) Fluoreszenz.

2.2.3.4. *UroVysion*

Für die Fluoreszenz-In-Situ-Hybridisierung wurde das Testkit UroVysion des Herstellers Abbott (Abbott Molecular Inc., Downers Grove, IL, USA) unter Einhaltung der Testinstruktionen verwendet.

Bei der Fluoreszenz-In-Situ-Hybridisierung (FISH) werden einsträngige, fluoreszenzmarkierte DNA-Sonden eingesetzt, die sich präzise an komplementäre Zielsequenzen anlagern. Die gebundene DNA-Sequenz kann anschließend in der Fluoreszenzmikroskopie direkt nachgewiesen werden.

Als erster Schritt der Probenvorbereitung wurde der espostifizierte Urin in einem 50ml-Zentrifugenröhrchen zentrifugiert (Hettich Rotanta96R Zentrifuge) bei 800 Umdrehungen, 600xG für 12 Minuten. Dann wurde der Überstand aus den Rundhalsglasröhrchen abdekantiert auf 1-2 ml und die Probe wurde erneut aufgeschüttelt. Anschließend wurde mit einer Zytocentrifuge CytoSpin2 des Herstellers Shandon (Shandon Labortechnik GmbH, Frankfurt) bei 1500 Umdrehungen (600xG) 3 Minuten zentrifugiert.

Für die Herstellung der Präparate wurden Objektträger verwendet (SuperFrost/Plus, Langenbrinck, Teningen), die auf spezielle Art beschichtet sind. Auf diese wurde das vorbereitete Zellsediment aufgebracht. Nun wurden die Präparate mit mehreren Lösungen nach Anweisung des Herstellers so vorbehandelt und fixiert, dass sie anschließend dem FISH-Verfahren zugeführt werden konnten.

Zu Beginn wurden alle benötigten Arbeitsreagenzien bereitgestellt und eine Denaturierungslösung hergestellt. Ebenfalls vorbereitet und erwärmt wurde die UroVysion-Sondenmischung, die im Testkit enthalten ist und die bei -20°C gelagert wird. Sie enthält einen Hybridisierungspuffer und fluorophor-markierte DNA-Sonden, die spezifisch für die zu detektierenden Chromosomen sind (CEP3, CEP7, CEP17 und LSI 9p21).

In die Denaturierungslösung wurden die Präparate bei 73°C gegeben und für 3 Minuten belassen. Dabei spaltet sich die doppelsträngige DNA in zwei

Einzelstränge. Dann wurden je 3µl der Sondenlösung auf die ausgewählten Zielbereiche der Präparate gegeben, mit einem Deckglas versehen, mit Gummilösung abgedichtet und die Objektträger in eine Hybridisierungskammer gesetzt. Während der Inkubationszeit von 16 Stunden bei 37°C bindet die DNA-Sonde an entsprechende DNA-Abschnitte des Präparats. Abschließend wurde mit den Post-Hybridisierungs-Waschschritten mit verschiedenen Waschlösungen fortgefahren. Dann wurde ein Gegenfärbemittel aufgetragen, die fertigen Präparate wurden mit Deckgläsern versehen und der Befundung zugeführt.

Die Befundung der Präparate wurde vorgenommen mit Hilfe eines Zeiss-Axioskops mit der Vergrößerung 400x und mit den Filtern DAPI-Einzelbandpass, Einzelbandpass-Aqua (Chromosom 17), Einzelbandpass-Yellow (Gold) (Locus 9p21) sowie Red/Green-Doppelbandpass (Chromosomen 3, 7). Als morphologische Auffälligkeiten maligner Zellen können bei der Beurteilung der Präparate beispielsweise ein großer Zellkern, unregelmäßige Umrisse des Zellkerns oder auch Zellcluster genannt werden. Diese auffälligen Zellen wurden dann in höherer Vergrößerung (600x – 1000x) fokussiert und mit allen Filtern betrachtet. Es wurden dabei nach Vorgaben des Herstellers die chromosomalen Aberrationen in Punktzahlen dokumentiert. Der Test wurde als positiv gewertet, wenn bei mindestens 4 Zellkernen 3 Signale von mindestens 2 unterschiedlichen Chromosomen (3,7, oder 19) zu sehen waren oder wenn bei mindestens 12 Zellkernen kein Signal für den Genlocus 9p21 erkennbar war.

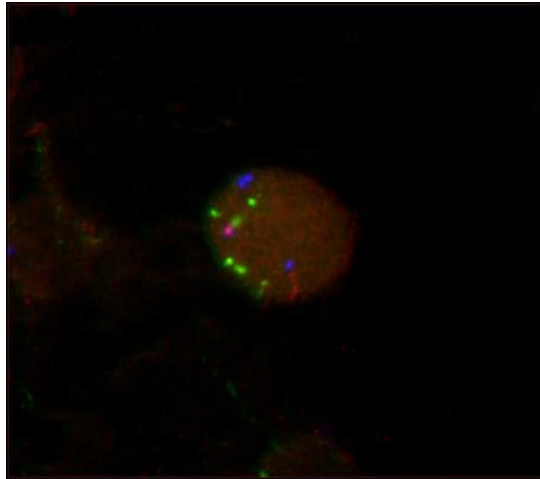


Abb. 9: Fluoreszenzmikroskopie beim UroVysion-Test. Darstellung einer Zelle mit den Fluoreszenzsignalen rot (Chromosom 3), grün (Chromosom 7) und blau (Chromosom 17). Vergrößerung 400x

2.2.4. Urinstatus

Die semiquantitative Bestimmung des Urinstatus erfolgte durch automatisierte Harnanalyse mittels eines Miditron M Analysegeräts des Herstellers Roche (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim). Dazu wurde ein Universal-Harnteststreifen Combur 10 des Herstellers Roche in die Urinprobe des Patienten getaucht und in den Meditron M eingelegt. Die Testfelder wurden nun reflexionsphotometrisch vermessen, wobei für die einzelnen Testfelder entsprechend der Wellenlänge der Indikatorfarbe selektive Leuchtdioden genutzt werden. Die Urinanalyse mittels Combur 10 Teststreifen beinhaltet die Bestimmung von pH, Leukozyten, Nitrit, Protein, Glucose, Keton, Urobilinogen, Bilirubin, Erythrozyten und spezifischem Gewicht in der Urinprobe. Die Ergebnisse wurden nach Plausibilitätsprüfung über einen Befundausdruck und den direkten Datentransfer mit der Klinik-EDV dokumentiert.

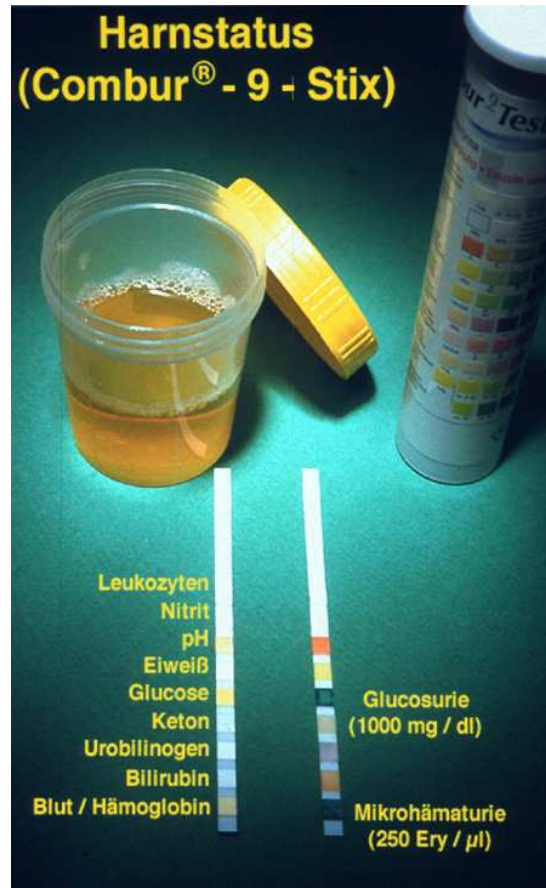


Abb. 10: Combur-9-Urinstix: Darstellung eines beispielhaften Teststreifens

Gleichzeitig wurde eine Mikroskopie des parallelen Urinsediments durchgeführt. Das Probenmaterial wurde zentrifugiert, das Sediment in eine Fuchs-Rosenthal-Zählkammer verbracht und unter einem Zeiss-Mikroskop bei 400facher Vergrößerung beurteilt. Dabei wurde die Zahl der Erythrozyten und Leukozyten pro μl angegeben, die Morphologie der Zellen beurteilt sowie nach weiteren geformten Bestandteilen wie abgeschilferten Zellen, Zylindern, Kristallen, Bakterien oder Parasiten gesucht.

2.2.4.1. *Definition der potenziellen Einflussparameter HWI und Hämaturie aus den Ergebnissen des Urinstatus*

Mittels der Ergebnisse des Urinstatus und der Sedimentmikroskopie sollte für jeden Patienten bestimmt werden, ob bei ihm zum Zeitpunkt der Untersuchung ein Harnwegsinfekt oder eine Mikrohämaturie vorlag oder nicht. Dafür wurden

Grenzwerte definiert, ab denen eine Veränderung der Parameter im Urinstatus als Vorliegen eines Harnwegsinfekts oder einer Hämaturie gelten.

So wurde das Vorliegen eines floriden Harnwegsinfekts dann definiert, wenn im Urin des entsprechenden Patienten eine der folgenden Wertekonstellationen gegeben war:

- Leukozytenzahl von mindestens 100 Zellen/ μ l und gleichzeitig eine Erythrozytenzahl >1
- Leukozytenzahl von mindestens 100 Zellen/ μ l und gleichzeitig ein positiver Nachweis von Nitrit

Bei der Erythrozytenzahl im Urin wurden sowohl die Ergebnisse des Urinstatus als auch der Mikroskopie in Betracht gezogen und es wurde das jeweils höhere Ergebnis eingerechnet. Trafen beide oben genannten Konstellationen nicht zu, wurde ein Harnwegsinfekt verneint.

Als Hämaturie wurde jeder Nachweis von Erythrozyten im Urin gewertet. Auch hier wurden sowohl Mikroskopie als auch Urinstatus betrachtet. Fanden sich keine Erythrozyten in der Probe, wurde dies als ‚keine Hämaturie‘ notiert.

2.3. Parallele Zystoskopie und Histologie

Die Zystoskopie gilt als Goldstandard der Diagnostik des Urothelkarzinoms (Patschan et al. 2008), sowohl in der Primärdiagnostik als auch in der Nachsorge. Sie wurde dementsprechend regelhaft zur Abklärung bei den Patienten durchgeführt, bei denen sich aufgrund von nichtinvasiven Untersuchungen der Verdacht auf ein Urothelkarzinom erhärtet hatte. Auch im Rahmen der Nachsorge nach erfolgter Therapie eines Harnblasenkarzinoms spielt die Zystoskopie eine gewichtige Rolle und wird hier routinemäßig eingesetzt.

In der vorliegenden Arbeit wurde der Zystoskopiebefund als Vergleichsmoment für die Ergebnisse der zu untersuchenden Tests angewandt. Dabei wurden die Befunde der endoskopischen Diagnostik folgendermaßen definiert:

Zeigte sich in der Zystoskopie eine unauffällige Harnblasenwand und es wurden dementsprechend keine Proben für die Histologie entnommen, wurde das Ergebnis als ‚negativ‘ gewertet. In diesem Fall wurde davon ausgegangen, dass zum untersuchten Zeitpunkt kein Harnblasenkarzinom vorlag. Fanden sich auffällige Areale, wurden diese in der Folge biopsiert und einer histologischen Untersuchung zugeführt. Anhand des pathologischen Befunds konnten dann benigne Proben als ‚negativ‘ klassifiziert werden. Maligne Befunde in der histologischen Aufarbeitung wurden als ‚positiv‘ registriert und mit dem gefundenen Tumorstadium dokumentiert.

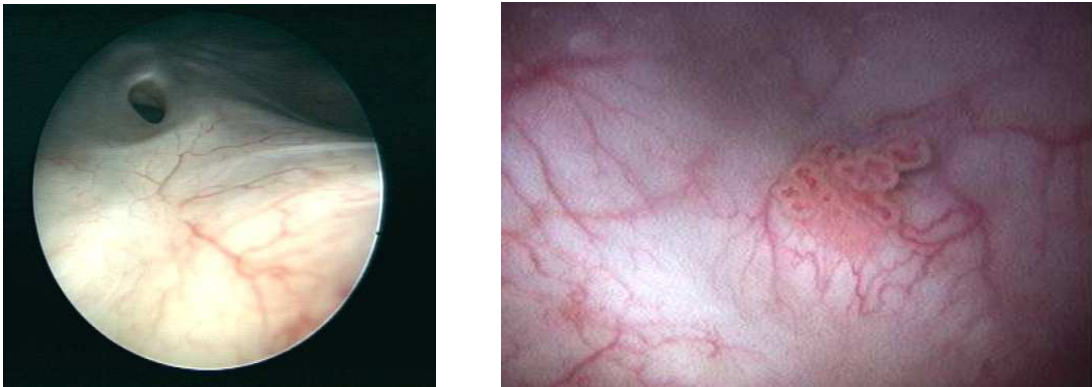


Abb. 11: Zystoskopie. Darstellung zweier Urothelkarzinome in der Zystoskopie (links als weißliche Fläche im Bildvordergrund, rechts zentral im Bild)

2.4. Dokumentation der erhobenen Daten

Für die Dokumentation der klinischen Patientendaten wurden die elektronisch gespeicherten Arztbriefe jedes Patienten gesichtet sowie die zugehörigen Operationsberichte, die Laborbefunde sowie die Befunde der Histopathologie eingesehen. Bei unvollständiger Datenlage wurden die Patientenakten direkt gesichtet, um daraus fehlende oder unklare Angaben zu vervollständigen. Nach Abschluss der Evaluation wurden die Patientendaten terminal anonymisiert.

In eine Datenbank wurde für jeden in die Studie eingeschlossenen Patienten folgende Parameter aufgenommen: Name, Vorname, sowie Geburtsdatum des Patienten, Probennummer der untersuchten Urinprobe, Herkunft der Urinprobe

(nach Lokalisation im Harntrakt), Art der Uringewinnung, Datum der Uringewinnung, Ergebnisse der durchgeführten Tests (Zytologie, NMP22, uCyt+, Urovysion), Ergebnis des Urinstatus (Leukozytenzahl, Erythrozytenzahl, Nitrit), Ergebnis der Zystoskopie (kein Hinweis auf Tumor oder auffällige Zystoskopie mit Entnahme von Gewebeproben) sowie gegebenenfalls das Ergebnis der histologischen Untersuchung (keine Malignität/Nachweis von malignem Gewebe). Im Falle eines Nachweises einer Neoplasie wurde weitergehend das Tumorstadium in der TNM-Klassifikation sowie der WHO-Klassifikation notiert.

Die direkt aus den Patientenunterlagen erhaltenen Daten wurden anschließend weiterbearbeitet, so dass die für die vorliegende Arbeit wesentlichen Informationen für die weiteren Berechnungen genutzt werden konnten. Aus dem Geburtsdatum des Patienten sowie dem Datum der Uringewinnung wurde das Alter des Patienten zum Untersuchungszeitpunkt errechnet. Aus den Angaben zur Art der Uringewinnung wurde anhand der vorher festgelegten Definition die Frage nach ‚vorangegangener mechanischer Manipulation bei der Uringewinnung‘ beantwortet. Die Herkunft der Urinprobe führte zu einer definitionsgemäßen Einteilung in ‚Herkunft des Urins aus Harnblase oder dem oberer Harntrakt‘. Anhand der vorher bestimmten Kriterien wurden die Ergebnisse der Urinmarkertests in ‚positiv‘ und ‚negativ‘ sowie ‚nicht verwertbar‘ eingeteilt. Aus den Angaben des Urinstatus wurden dann nach den vorgegebenen Kriterien die Eigenschaften ‚HWI vorliegend ja/nein‘ und ‚Hämaturie vorliegend ja/nein‘ dokumentiert. In einem weiteren Schritt konnte aus den Ergebnissen der Zystoskopie und der histopathologischen Untersuchung eine Gruppenbildung durchgeführt werden hinsichtlich des Tumorstadiums. In Anlehnung an die TNM-Klassifikation wurde das jeweilige T-Stadium des Tumors betrachtet und in zwei Gruppen eingeteilt: eine Gruppe mit Tumoren im Stadium Ta oder T1, die andere Gruppe mit Tumoren im Stadium $T \geq 2$.

Die Gesamtmenge aller Patienten ohne Tumor wurde ebenfalls weiter unterteilt: eine Gruppe bildeten die Patienten, bei denen die Zytologie im Rahmen der

Erstdiagnostik durchgeführt worden war und bei denen in der Vorgeschichte kein Urothelkarzinom bekannt gewesen war. Die zweite Gruppe umschloss all die Patienten, bei denen die Indikation des Tests eine Kontrolluntersuchung im Rahmen des Follow-up nach Urothelkarzinom war.

2.5. Statistische Analyse

Die Auswertungen wurden mit dem statistischen Auswertungsprogramm JMP® (Version 7.0, SAS Institute, Cary, NC, USA) durchgeführt.

In der vorliegenden Arbeit wurden sowohl Merkmale mit nominaler als auch ordinaler Ausprägung untersucht. Um statistische Unterschiede nachzuweisen, wurden verschiedene Signifikanztests verwendet. Eine Signifikanz liegt dann vor, wenn der p-Wert kleiner ist, als das zuvor festgelegte Signifikanzniveau. In der Auswertung wurden die Parameter als signifikant unterschiedlich angesehen, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit unter 5% lag ($p < 0,05$). Bei p-Werten zwischen 5% und 10% ($0,05 > p > 0,1$) wurden das Ergebnis als „auffällig“ gewertet.

In der vorliegenden Studie wurden 2 statistische Verfahren angewendet:

- Chi-Quadrat Tests sind zur Prüfung der Unterschiedlichkeit von nominal oder ordinal verteilten Variablen im Rahmen von Kontingenzanalysen verwendet worden
- Logistische Regressionsanalysen sind zur Prüfung des unabhängigen Einflusses mehrerer gleichzeitig einwirkender Einflussvariablen auf dieselbe Zielvariable zur multivariaten Analyse verwendet worden.

2.6. Berechnungen

Die Datenbank wurde nach Vorgaben des Instituts für Medizinische Biometrie Tübingen aufgearbeitet. Ein Kodierplan wurde erstellt, der den Namen des Merkmals, die Maßeinheit, den entsprechenden Skalentyp, die möglichen vorkommenden Werte mit Angabe der jeweiligen Bedeutung, bei numerischen

Spalten minimalen und maximalen Wert und die Definition der Parameter in Ziel- oder Einflussgrößen enthielt.

Für jeden der durchgeführten Teste sind dann für die ordinalen Variablen ‚Test positiv/negativ‘ und ‚Zystoskopie und Histologie positiv/negativ‘ Kontingenzanalysen mit resultierenden 4-Felder-Tafeln erstellt worden – jeweils getrennt für die möglichen Störfaktoren ‚Hämaturie vorliegend ja/nein‘, ‚Harnwegsinfekt vorliegend ja/nein‘ und ‚mechanische Manipulation bei der Uringewinnung ja/nein‘. Anhand des Kriteriums, ob die entsprechende potenzielle Störgröße vorlag oder nicht, sind dann die aus den 4-Felder-Tafeln ermittelbaren relativen Ergebnisse der Tests jeweils verglichen worden.

Für die Subgruppe der Patienten ohne Tumor ist getrennt für das Vorliegen und nicht Vorliegen des entsprechenden potenziellen Störfaktors der Anteil der falsch-positiven Ergebnisse für jeden der durchgeführten Teste ermittelt worden. Dieselbe Berechnung erfolgte auch in Untergruppen der Patienten zur Erstdiagnostik und zur Rezidivsuche.

Für die Subgruppe der Patienten mit Tumor ist der Anteil der falsch-negativen Ergebnisse für jeden durchgeführten Test ermittelt worden, auch hier unter Berücksichtigung des entsprechenden potenziellen Störfaktors. Nach einer weiteren Stratifizierung in Gruppen von Patienten mit CIS, mit oberflächlichem und mit muskelinvasivem Karzinom erfolgte auch hier dieselbe Berechnung.

2.7. Datenschutz

Die ärztliche Schweigepflicht und der vertrauliche Umgang mit allen Daten wurden beachtet. Die Daten wurden nach Abschluss der Akten-Erhebungen terminal anonymisiert so dass keinerlei Rückverfolgung der entsprechenden Ergebnisse zu einzelnen Patienten möglich ist. Die Auflagen des Datenschutzgesetzes wurden beachtet. Die erhobenen Daten wurden ausschließlich mittels eines Rechners bearbeitet, der vom internen Kliniknetz abgekoppelt war und zu dem nur autorisierte Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter

der Klinik für Urologie, die direkt an der Datenerhebung beteiligt waren, Zugang hatten.

2.8. Ethik

Zur Studiendurchführung wurde ein Prüfplan erstellt, welcher den Titel und Inhalt der Arbeit, Namen der Beteiligten und Angaben über die Finanzierung enthielt. Außerdem wurde der Inhalt der Arbeit mit den wissenschaftlichen Grundlagen beschrieben und die Studienziele definiert. Weiterhin gibt der Prüfplan Aufschluss über die Studiendauer, Studienpopulation und Rekrutierung, Ein- und Ausschlusskriterien, Untersuchungsmethoden und Informationen über die Einhaltung des Datenschutzes. Der Prüfplan wurde der Tübinger Ethikkommission unter der Leitung von Herrn Professor Dr. Luft zur Begutachtung vorgelegt und das Vorhaben ist positiv beschieden worden. Es erhielt das Ethik-Votum 400/2009A.

3. Ergebnisse

3.1. Beschreibung des Patientenkollektivs

Im untersuchten Zeitraum von Februar 2004 bis Februar 2009 wurde in der Universitätsklinik für Urologie in Tübingen bei 3686 Patienten mindestens einer der untersuchten Tests durchgeführt. Von diesem Patientenkollektiv konnten anhand der bereits genannten Einschluss- und Ausschlusskriterien $n=2391$ in die Untersuchung aufgenommen werden.

Weiterhin konnte aufgrund der differenzierten Datenerhebung für jeden Patienten bestimmt werden, von welchem Entnahmeort die Urinprobe stammte und wo ein möglicherweise vorhandener Tumor im Harntrakt lokalisiert war. So konnten all diejenigen Patienten identifiziert werden, bei denen eine Urinentnahme im oberen Harntrakt vorgenommen worden war, der Tumor aber in der Harnblase gelegen war. Da die Auswertung der Tests bei dieser Konstellation keine korrekten Ergebnisse erbringen kann, wurden solche Patienten aus dem Untersuchungskollektiv ausgeschlossen. Dies waren 26 Patienten.

In die Auswertung eingegangen ist schließlich ein Patientenkollektiv von $n=2365$.

3.1.1. Alters- und Geschlechterverteilung

Unter den 2365 untersuchten Patienten waren 1776 Männer und 589 Frauen. Dies entspricht einem Geschlechterverhältnis von 75,1% - 24,9% (Männer – Frauen).

Das mittlere Alter des Patientenkollektivs ($n=2365$) betrug zum Zeitpunkt der Testdurchführung 64,7 Jahre mit einer Standardabweichung von 13,76 Jahren. Der Median lag bei 66 Jahren. In die Untersuchung ging ein Kind im Alter von 1 Jahr ein, der zweitjüngste Patient war 17 Jahre alt. Der älteste Patient war zum Untersuchungszeitpunkt 97 Jahre alt.

3.1.2. Lokalisation und Tumorstadium

Vom Gesamtkollektiv (n=2365) hatten 1822 Patienten zum Zeitpunkt der Testdurchführung nachweislich keinen Tumor. Dies entspricht einem Anteil von 77,0%. Bei 543 Patienten (23,0%) wurde in der begleitenden Zystoskopie und histologischen Untersuchung ein malignes Urothelkarzinom nachgewiesen.

Dabei entfielen auf den oberen Harntrakt 68 Tumoren (12,5%). In der Harnblase waren 476 (87,5%) der Tumoren lokalisiert.

Von den 543 erkannten Neoplasien gehörten 405 (74,6%) zur Gruppe der nicht-muskelinvasiven Karzinome (Ta oder T1). 109 (20,1%) Tumoren waren bereits muskelfiltrierend (T2 – T4). In 29 Fällen (5,3%) lag ausschließlich ein Carcinoma in situ vor.

3.1.3. Häufigkeit der potenziellen Einflussfaktoren Hämaturie und HWI

Insgesamt konnte bei 2077 Patienten der Urinstatus zum Zeitpunkt der Testdurchführung ermittelt werden. Ungeachtet eines eventuellen Tumornachweises hatten 1554 (74,8%) Patienten eine Hämaturie, 381 (18,3%) wurden positiv auf einen Harnwegsinfekt getestet.

Von den Patienten mit Hämaturie hatten 377 (24,3%) einen Tumor. Erwartungsgemäß stieg der Anteil der Patienten mit Hämaturie mit dem diagnostizierten Tumorstadium. Während von den Patienten mit CIS nur 70,4% (19 von 27) eine Hämaturie zeigten – was in etwa dem Anteil der Hämaturie bei tumorfreien Patienten entspricht – waren es bei Patienten mit nichtinvasivem Urothelkarzinom 79,4% (286 von 360) und bei muskelinvasivem Karzinom 93,5% (72 von 77 Patienten).

Von den Patienten mit Harnwegsinfekt hatten 25,2% (96 von 381) ein Urothelkarzinom. Auch hier zeigte sich eine Abhängigkeit des Vorhandenseins des HWI vom Tumorstadium: mit steigendem Tumorstadium erhöhte sich der Anteil der Patienten mit Harnwegsinfekt von 11,1% bei CIS bis 33,8% bei invasivem Karzinom.

3.2. Testdurchführung

3.2.1. Herkunft der Urinproben und Invasivität der Urinentnahme

Von den 2365 eingegangenen Urinproben konnte bei 2336 Proben der genaue Entnahmeort eruiert werden. In 2113 Fällen (90,5%) stammte die Probe aus der Harnblase. 223 (9,5%) Urinproben wurden aus dem oberen Harntrakt entnommen.

Für 2149 Proben konnte sicher bestimmt werden, ob mit der Entnahme des Urins eine mechanische Manipulation einherging. Bei 749 (34,9%) der Patienten wurde die Urinprobe nichtinvasiv gewonnen, die meisten Proben entfielen dabei auf Mittelstrahlurine. Invasive Verfahren zur Urinentnahme wurden bei 1400 (65,1%) der Patienten angewandt.

3.2.2. Harnmarkertests und Verteilung der Ergebnisse

Bei der Betrachtung der einzelnen Harnmarkertests zeigt sich eine unterschiedliche Häufigkeit der Anwendung der verschiedenen Tests.

Die Urinzytologie wurde mit Abstand am häufigsten genutzt, für 2276 Patienten (96,2% des Gesamtkollektivs) liegen Ergebnisse vor. Das Resultat der Zytologie war bei 1564 (68,7%) der Patienten negativ und bei 712 (31,3%) der Patienten positiv.

Bei 57,9% der Patienten (1370 von 2365) wurde ein UroVysion-Test angefertigt. Ein negatives Testergebnis lag bei 976 (71,2%) Patienten vor, ein positives bei 394 (28,8%) Patienten.

Der NMP22-Test wurde fast ebenso häufig angewandt, bei gut der Hälfte der Patienten (1232 von 2365; 52,1%). Hier waren 494 (40,1%) Proben negativ und 738 (59,9%) Proben positiv.

Die geringste Fallzahl entfällt auf den uCyt+-Test mit einem Anteil von 29,5% (698 Testdurchführungen). Das Ergebnis des uCyt+-Tests war in 486 (69,6%) Fällen negativ und in 212 (30,4%) Fällen positiv.

3.3. Einfluss der Störfaktoren auf das Testergebnis

3.3.1. Zytologie

3.3.1.1. Einfluss einer Hämaturie auf das Testergebnis

Bei 2008 Patienten konnte der Einfluss der Hämaturie auf das Ergebnis der Urinzytologie untersucht werden. Dabei wurde bei 1504 (74,9%) Patienten eine Hämaturie festgestellt, 504 (25,1%) Patienten hatten keine Hämaturie.

3.3.1.1.1. Einfluss der Hämaturie auf das Ergebnis der zytologischen Befundung bei Patienten ohne Tumornachweis

Es wurden 1559 Patienten untersucht, bei denen histologisch kein Tumor nachgewiesen wurde. Davon hatten 418 Patienten (26,8%) keine Hämaturie, 1141 Patienten (73,2%) hatten eine Hämaturie.

Von den Patienten ohne Hämaturie hatten 12,9% ein falsch-positives Ergebnis der Zytologie. Bei Patienten mit Hämaturie war die Zytologie dagegen deutlich häufiger positiv mit 17,8% der Fälle ($p=0,0120$).

Häufigkeiten	Zytologie negativ	Zytologie positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
Hämaturie negativ	364 23,35 27,96 87,08	54 3,46 21,01 12,92	418 26,81
Hämaturie Positiv	938 60,17 72,04 82,21	203 13,02 78,99 17,79	1141 73,19
	1302 83,52	257 16,48	1559

Tab. 7: Kontingenztabelle von Hämaturie nach Zytologie bei tumorfreien Patienten: Angabe der absoluten Patientenzahlen und der prozentualen Anteile

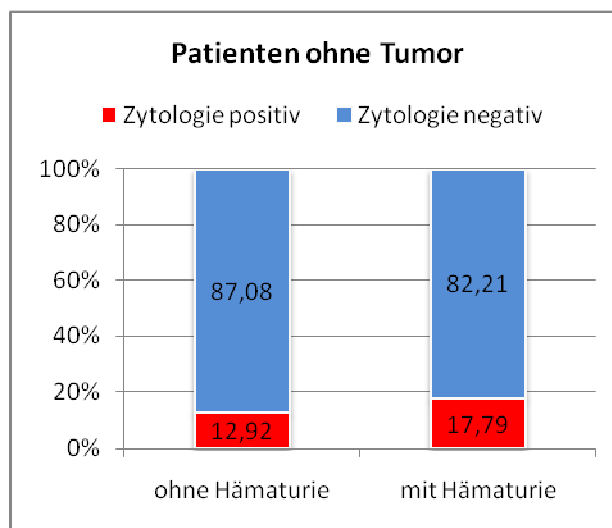


Abb. 12: Anteile der tumorfreien Patienten mit positivem bzw. negativem Ergebnis der Zytologie in Abhängigkeit von Hämaturie: Zahlenangaben in Prozent

In der Subgruppe der Patienten, die zur Erstdiagnostik kamen (n=994) zeigte sich im Gegensatz zur Gesamtgruppe aller tumorfreien Patienten bei der Betrachtung der Patienten mit und ohne Hämaturie kein signifikanter Unterschied hinsichtlich falsch-positiver Testergebnisse. Ohne Hämaturie war das Ergebnis der Zytologie in 8,6% positiv, mit Hämaturie waren 11,8% der Ergebnisse positiv ($p=0,1012$).

Häufigkeiten	Zytologie negativ	Zytologie positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
Hämaturie	224	21	245
Negativ	22,54	2,11	24,65
	25,31	19,27	
	91,43	8,57	
Hämaturie	661	88	749
positiv	66,50	8,85	75,35
	74,69	80,73	
	88,25	11,75	
	885	109	994
	89,03	10,97	

Tab. 8: Kontingenztabelle von Hämaturie nach Zytologie in der Subgruppe tumorfreier Patienten zur Erstdiagnostik: Angabe der absoluten Patientenzahlen und der prozentualen Anteile

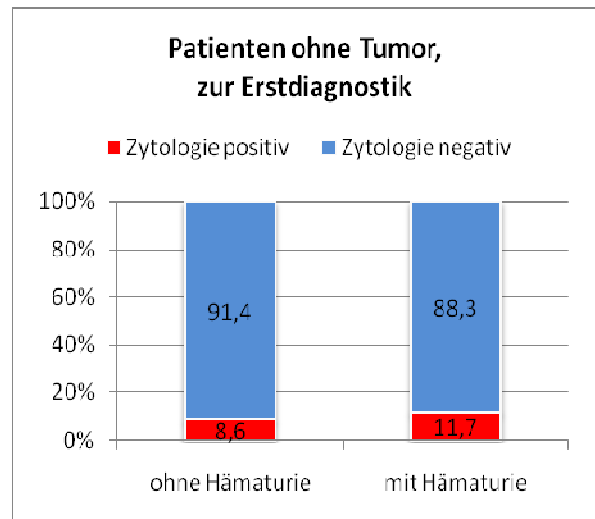


Abb. 13: Subgruppe der tumorfreien Patienten zur Erstdiagnostik. Positives bzw. negatives Ergebnis der Zytologie in Abhängigkeit von Hämaturie: Zahlenangaben in Prozent

In der Subgruppe der Patienten, die zur Rezidivsuche kamen, war die Verteilung wie folgt: Bei Patienten ohne Hämaturie war das Ergebnis der Zytologie in nur 19,1% positiv, wohingegen bei Patienten mit Hämaturie mit 29,4% deutlich mehr Ergebnisse positiv waren. Dies ergab einen signifikanten Unterschied ($p=0,0063$).

Häufigkeiten	Zytologie negativ	Zytologie positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
Hämaturie negativ	140 24,78 33,57 80,92	33 5,84 22,30 19,08	173 30,62
Hämaturie Positiv	277 49,03 66,43 70,66	115 20,35 77,70 29,34	392 69,38
	417 73,81	148 26,19	565

Tab. 9: Kontingenztabelle von Hämaturie nach Zytologie in der Subgruppe tumorfreier Patienten zur Rezidivsuche: Angabe der absoluten Patientenzahlen und der prozentualen Anteile

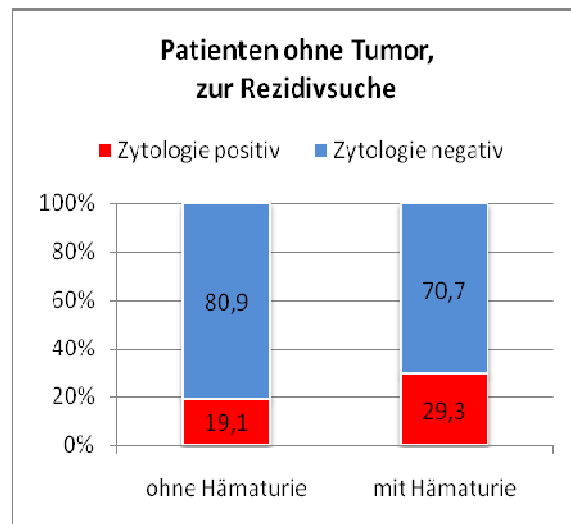


Abb. 14: Subgruppe der tumorfreien Patienten zur Rezidivsuche. Positives bzw. negatives Ergebnis der Zytologie in Abhängigkeit von Hämaturie: Zahlenangaben in Prozent

3.3.1.1.2. Einfluss der Hämaturie auf das Ergebnis der zytologischen Befundung bei Patienten mit Tumornachweis

Unter den 2008 untersuchten Patienten waren 449 Patienten, bei denen in der histologischen Untersuchung ein Tumor nachgewiesen wurde. Davon hatten 86 Patienten (19,2%) keine Hämaturie, 363 Patienten (80,8%) hatten eine Hämaturie.

Unter den Patienten mit Hämaturie war die zytologische Befundung in 17,9% falsch-negativ. Lag keine Hämaturie vor, so waren trotz Tumornachweis sogar 37,2% der Ergebnisse negativ ($p=0,0002$) (Tab. 10, Abb. 15).

Die getrennte Untersuchung der Subgruppen ‚oberflächlicher Tumor‘ und ‚invasiver Tumor‘ ergab dementsprechende Ergebnisse: Der Anteil der falsch-negativen Testergebnisse war bei Patienten mit Hämaturie deutlich geringer (22,1% und 4,35%) als bei Patienten ohne Hämaturie (39,7% und 60,0%).

In der Subgruppe der Patienten mit Carcinoma in situ waren insgesamt lediglich 26 Patienten, wobei in dieser Subgruppe nur ein einziges Ergebnis der Zytologie negativ war.

Häufigkeiten	Zytologie negativ	Zytologie positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
Hämaturie negativ	32 7,13 32,99 37,21	54 12,03 15,34 62,79	86 19,15
Hämaturie positiv	65 14,48 67,01 17,91	298 66,37 84,66 82,09	363 80,85
	97 21,60	352 78,40	449

Tab. 10: Kontingenztabelle von Hämaturie nach Zytologie bei Patienten mit Tumor: Angabe der absoluten Patientenzahlen und der prozentualen Anteile

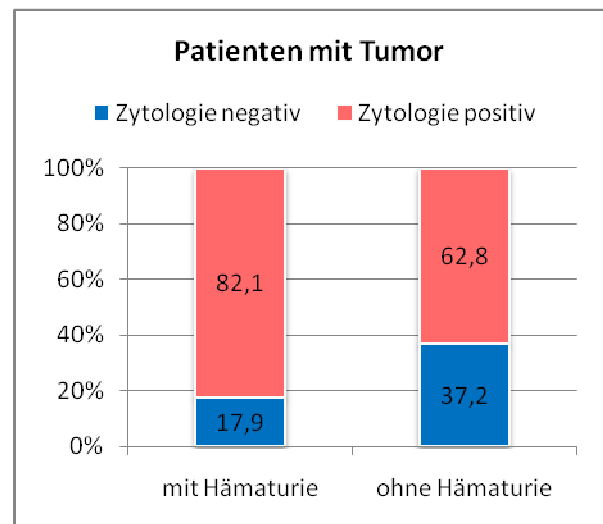


Abb. 15: Anteile der Patienten mit positivem bzw. negativem Ergebnis der Zytologie in Abhängigkeit von Hämaturie: Zahlenangaben in Prozent

3.3.1.2. Einfluss eines Harnwegsinfekts auf das Testergebnis

Bei insgesamt 2010 Patienten konnte der Einfluss eines Harnwegsinfekts auf das Ergebnis der Zytologie untersucht werden. Dabei wurde bei 357 Patienten ein Harnwegsinfekt festgestellt, 1653 Patienten hatten keinen Harnwegsinfekt.

3.3.1.2.1. Einfluss des Harnwegsinfekts auf das Ergebnis der Zytologie bei Patienten ohne Tumornachweis

Es wurden 1558 Patienten untersucht, bei denen histologisch kein Tumor nachgewiesen wurde. Davon hatten 1291 Patienten (82,9%) keinen Harnwegsinfekt, 267 Patienten (17,1%) hatten einen Infekt.

Bei den Patienten ohne Harnwegsinfekt war die Zytologie lediglich in 15,7% der Fälle falsch-positiv. Bei Patienten mit Harnwegsinfekt zeigte die Zytologie

dagegen zu 20,2% ein positives Ergebnis, obwohl kein Tumor vorhanden war ($p=0,0455$).

Häufigkeiten	Zytologie negativ	Zytologie positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
HWI negativ	1088 69,83 83,63 84,28	203 13,03 78,99 15,72	1291 82,86
HWI positiv	213 13,67 16,37 79,78	54 3,47 21,01 20,22	267 17,14
	1301 83,50	257 16,50	1558

Tab. 11: Kontingenztabelle von Harnwegsinfekt nach Zytologie bei tumorfreien Patienten: Angabe der absoluten Patientenzahlen und der prozentualen Anteile

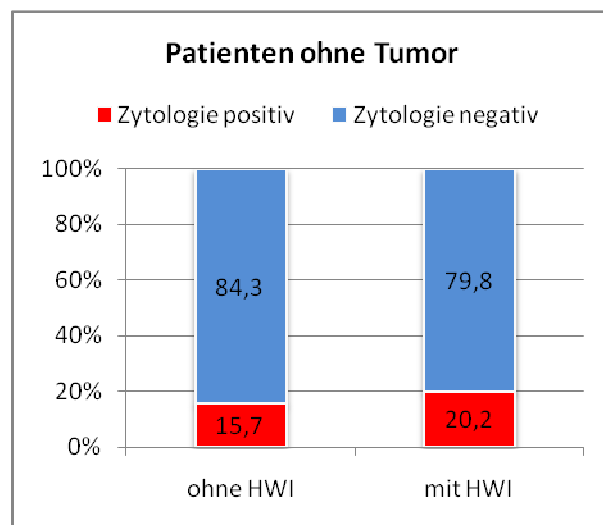


Abb. 16: Anteile der tumorfreien Patienten mit positivem bzw. negativem Ergebnis der Zytologie in Abhängigkeit eines Harnwegsinfekts: Zahlenangaben in Prozent

Bei der Aufteilung der tumorfreien Patienten in die zwei Subgruppen ‚Erstdiagnostik‘ und ‚Rezidivsuche‘ war in keiner der beiden Gruppen ein signifikanter Unterschied der Testergebnisse aufgrund des Harnwegsinfekts festzustellen. In der Erstdiagnostik ($n=993$) lag der Anteil der falsch-positiven Ergebnisse bei 10,8% (ohne HWI) und bei 12,1% (mit HWI). Bei Patienten zur Rezidivsuche ($n=565$) waren ohne HWI 24,8% der Ergebnisse falsch-positiv, mit HWI waren es 31,8% ($p=0,0861$).

3.3.1.2.2. Einfluss des Harnwegsinfekts auf das Ergebnis der Zytologie bei Patienten mit Tumornachweis

Unter den 2010 untersuchten Patienten waren 452 Patienten, bei denen in der histologischen Untersuchung ein Tumor nachgewiesen wurde. Davon hatten 362 Patienten (80,1%) keinen Harnwegsinfekt, 90 Patienten (19,9%) hatten einen Harnwegsinfekt.

Der Anteil falsch-negativer Ergebnisse unterschied sich dabei unwesentlich aufgrund des Harnwegsinfekts. Unter den Patienten mit HWI hatten trotz Tumornachweis 21,11% ein negatives Testergebnis, während bei Patienten ohne HWI die Zytologie zu 21,55% negativ war ($p=0,5278$) (Abb. 17, Tab. 12).

In den Subgruppen der Patienten mit oberflächlichem Tumor und mit invasivem Tumor zeigte sich eine entsprechende Verteilung der Zahlen. Zwischen den Patienten mit und ohne Harnwegsinfekt gab es keinen signifikanten Unterschied der falsch-negativen Testergebnisse. In der Subgruppe der Patienten nur mit Carcinoma in situ waren lediglich 26 Patienten. Insgesamt war dabei nur ein einziges Ergebnis der Zytologie negativ.

Häufigkeiten	Zytologie negativ	Zytologie positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
HWI negativ	78 17,26 80,41 21,55	284 62,83 80,00 78,45	362 80,09
HWI positiv	19 4,20 19,59 21,11	71 15,71 20,00 78,89	90 19,91
	97 21,46	355 78,54	452

Tab. 12: Kontingenztabelle von Harnwegsinfekt nach Zytologie bei Patienten mit Tumor: Angabe der absoluten Patientenzahlen und der prozentualen Anteile

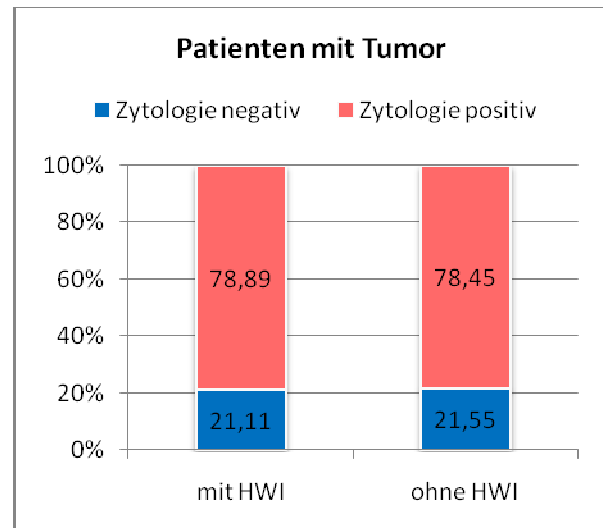


Abb. 17: Anteile der Patienten mit positivem bzw. negativem Ergebnis der Zytologie in Abhängigkeit von Harnwegsinfekt: Zahlenangaben in Prozent

3.3.1.3. Einfluss von mechanischer Manipulation bei der Uringewinnung auf das Testergebnis

Bei insgesamt 2077 Patienten konnte der Einfluss einer mechanischen Manipulation bei der Urinentnahme auf das Ergebnis der Zytologie untersucht werden. Dabei wurde bei 1368 Patienten die Urinprobe invasiv entnommen, bei 709 Patienten erfolgte die Uringewinnung nichtinvasiv.

3.3.1.3.1. Einfluss von mechanischer Manipulation auf das Ergebnis der zytologischen Befundung bei Patienten ohne Tumornachweis

Es wurden 1585 Patienten untersucht, bei denen histologisch kein Tumor nachgewiesen wurde. Dabei waren 566 Proben (35,7%) nichtinvasiv gewonnen worden, 1019 Proben (64,3%) waren invasiv entnommen worden.

Bei Patienten ohne Tumor und ohne mechanische Manipulation war die Zytologie lediglich in 13,4% positiv. Bei Patienten mit mechanischer Manipulation bei der Uringewinnung war die Zytologie dagegen in 18,1% positiv, obwohl ebenfalls kein Tumor vorlag ($p=0,0097$).

Häufigkeiten	Zytologie negativ	Zytologie positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
Keine mechan. Manipulation	490	76	566
	30,91	4,79	35,71
	36,98	29,23	
	86,57	13,43	
Mit mechan. Manipulation	835	184	1019
	52,68	11,61	64,29
	63,02	70,77	
	81,94	18,06	
	1325	260	1585
	83,60	16,40	

Tab. 13: Kontingenztabelle von mechanischer Manipulation nach Zytologie bei tumorfreien Patienten: Angabe der absoluten Patientenzahlen und der prozentualen Anteile

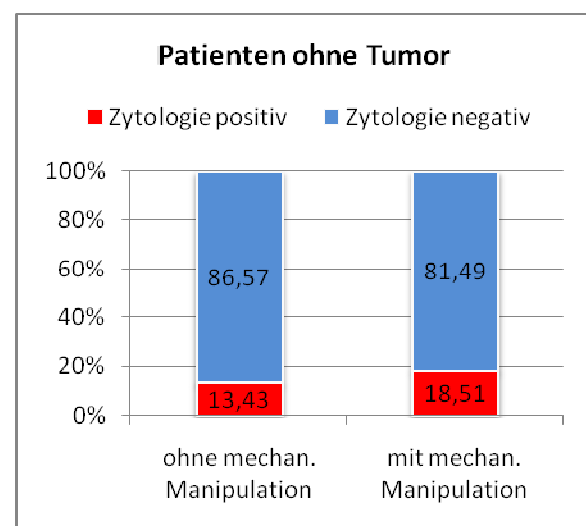


Abb. 18: Anteile der tumorfreien Patienten mit positivem bzw. negativem Ergebnis der Zytologie in Abhängigkeit von mechanischer Manipulation: Zahlenangaben in Prozent

In der Subgruppe der Patienten, die zur Erstdiagnostik kamen (n=1035) war die Verteilung wie folgt: Bei Patienten ohne invasive Entnahme der Urinprobe war das Ergebnis der Zytologie in 9,0% positiv, während bei Patienten mit invasiver Entnahme der Urinprobe 11,9% der Ergebnisse positiv waren. Die Ergebnisse beider Gruppen unterschieden sich also nicht signifikant voneinander ($p=0,0895$).

Häufigkeiten	Zytologie negativ	Zytologie positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
Keine mechan. Manipulation	324	32	356
	31,30	3,09	34,40
	35,14	28,32	
	91,01	8,99	
Mit mechan. Manipulation	598	81	679
	57,78	7,83	65,60
	64,86	71,68	
	88,07	11,93	
	922	113	1035
	89,08	10,92	

Tab. 14: Kontingenztabelle von mechanischer Manipulation nach Zytologie in der Subgruppe tumorfreier Patienten zur Erstdiagnostik: Angabe der absoluten Patientenzahlen und der prozentualen Anteile

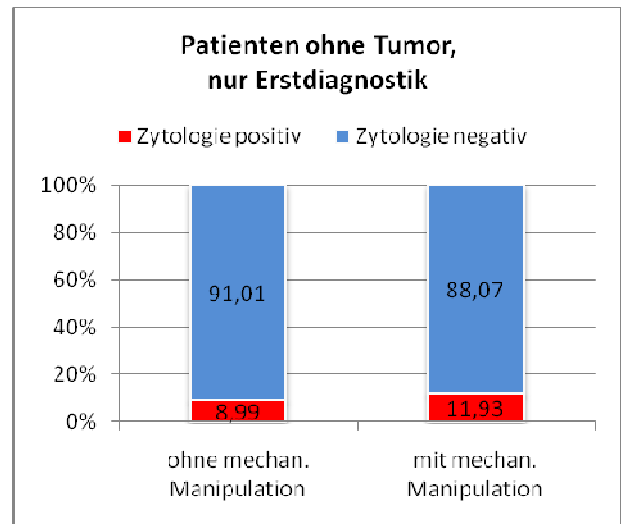


Abb. 19: Subgruppe der tumorfreien Patienten zur Erstdiagnostik. Positives bzw. negatives Ergebnis der Zytologie in Abhängigkeit von mechanischer Manipulation: Zahlenangaben in Prozent

In der Subgruppe der Patienten, die zur Rezidivsuche kamen (n=550), ergab sich wieder ein Bild wie in der Gesamtgruppe aller tumorfreien Patienten: Unter den 210 nichtinvasiv entnommenen Proben war die Zytologie lediglich in 21,0% positiv, wohingegen der Anteil falsch-positiver Ergebnisse bei invasiver Probenentnahme mit 30,3% deutlich höher war ($p=0,0100$).

Häufigkeiten	Zytologie negativ	Zytologie positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
Keine mechan. Manipulation	166	44	210
	30,18	8,00	38,18
	41,19	29,93	
	79,05	20,95	
Mit mechan. Manipulation	237	103	340
	43,09	18,73	61,82
	58,81	70,07	
	69,71	30,29	
	403	147	550
	73,27	26,73	

Tab. 15: Kontingenztabelle von mechan. Manipulation nach Zytologie in der Subgruppe tumorfreier Patienten zur Rezidivsuche: Angabe der absoluten Patientenzahlen und der prozentualen Anteile

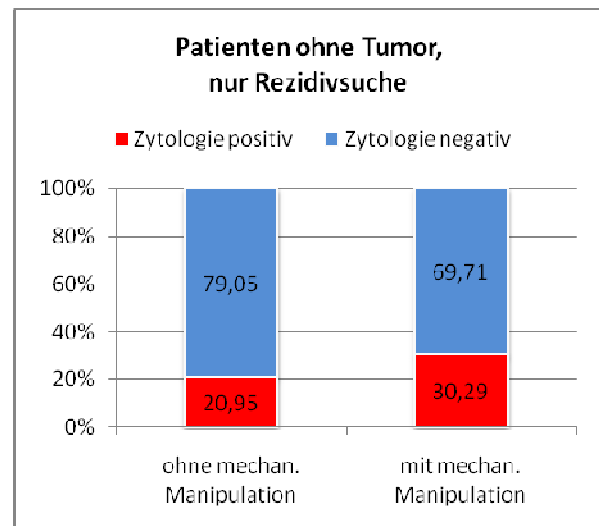


Abb. 20: Subgruppen der tumorfreien Patienten zur Rezidivsuche. Positives bzw. negatives Ergebnis der Zytologie in Abhängigkeit von mechan. Manipulation: Zahlenangaben in Prozent

3.3.1.3.2. Einfluss von mechanischer Manipulation auf das Ergebnis der zytologischen Befundung bei Patienten mit Tumornachweis

Unter den 2077 untersuchten Patienten waren 492 Patienten, bei denen in der histologischen Untersuchung ein Tumor nachgewiesen wurde. Davon waren 143 Proben (29,1%) ohne invasive Maßnahmen, 349 Proben (70,9%) waren durch invasive Maßnahmen gewonnen worden.

In beiden Gruppen zeigte sich ein ähnlicher Anteil an falsch-negativen Ergebnissen in der zytologischen Befundung: Unter den Patienten mit invasiver Urinprobenentnahme war die Zytologie in 20,1% negativ, während bei Patienten ohne invasive Urinprobenentnahme die Zytologie in 22,4% negativ war ($p=0,3221$). (Abb.21, Tab.16)

In den Subgruppen der Patienten mit oberflächlichem Tumor und mit invasivem Tumor zeigte sich eine entsprechende Verteilung der Zahlen. Bei invasiv entnommenen Proben lag der Anteil falsch-negativer Ergebnisse unwesentlich niedriger (23,91% und 5,56%) als bei nichtinvasiv entnommenen Proben (29,3% und 8,57%).

Häufigkeiten	Zytologie negativ	Zytologie positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
Keine mechan. Manipulation	32	111	143
	6,50	22,56	29,07
	31,37	28,46	
	22,38	77,62	
Mit mechan. Manipulation	70	279	349
	14,23	56,71	70,93
	68,63	71,54	
	20,06	79,94	
	102	390	492
	20,73	79,27	

Tab. 16: Kontingenztabelle von mechan. Manipulation nach Zytologie bei Patienten mit Tumor: Angabe der absoluten Patientenzahlen und der prozentualen Anteile

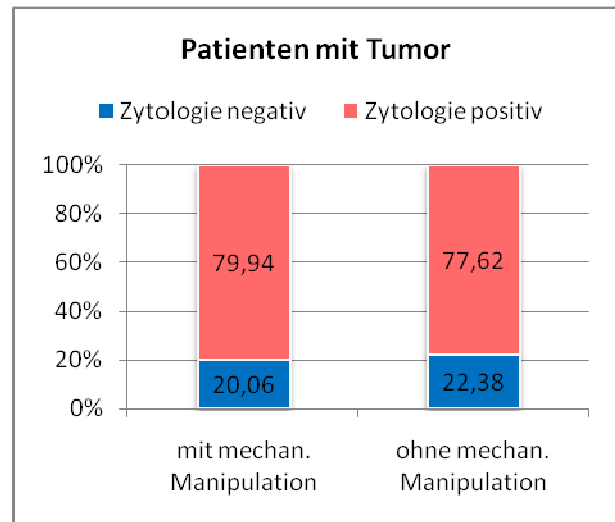


Abb. 21: Anteile der Patienten mit positivem bzw. negativem Ergebnis der Zytologie in Abhängigkeit von mechan. Manipulation: Zahlenangaben in Prozent

In der Subgruppe der Patienten mit Carcinoma in situ waren insgesamt lediglich 28 Patienten. In dieser Subgruppe war nur ein einziges Ergebnis der Zytologie negativ, dies bei einem Patienten mit invasiver Urinprobenentnahme.

3.3.1.4. Multivariate Varianzanalyse

In der multivariaten Varianzanalyse wurde der Einfluss mehrerer Variablen auf dieselbe Zielvariable untersucht. In diesem Fall war die Zielvariable das Testergebnis der Zytologie. Die untersuchten Einflussvariablen waren das Vorhandensein eines Tumors sowie alle untersuchten potenziellen Störfaktoren, also Hämaturie, Harnwegsinfekt und mechanische Manipulation. Für die gemeinsame Berücksichtigung aller 4 Faktoren konnte ein Patientenkollektiv von n=1847 Patienten herangezogen werden. In einem Effekt-Likelihood-Verhältnistest zeigte sich ein signifikanter Einfluss auf das Testergebnis der Zytologie durch das Vorhandensein eines Tumors ($p < 0,001$) und durch eine Hämaturie ($p = 0,0005$). Für den Harnwegsinfekt und die mechanische Manipulation konnte in dieser multivariaten Analyse kein signifikanter Einfluss festgestellt werden (Tab.17).

Quelle	Anzahl Parameter	Freiheitsgrade	L-R Chi-Quadrat	Wahrsch.>Chi ²
Hämaturie	1	1	12,1434024	0,0005
HWI	1	1	1,7068692	0,1914
mechan. Manipulation	1	1	1,6864494	0,1941
Tumor ja/nein	1	1	580,597391	<,0001

Tab. 17: Ergebnisse der Effekt-Likelihood-Verhältnistests für Zytologie bei insgesamt 4 Freiheitsgraden

In einem zweiten Schritt wurde der einzige signifikante Einflussfaktor neben dem Vorhandensein eines Tumors, nämlich die Hämaturie, aus der multivariaten Analyse herausgenommen. Dann wurde eine erneute Varianzanalyse durchgeführt mit 3 Freiheitsgraden - den übrigen 2 potenziellen Einflussfaktoren und dem Vorhandensein eines Tumors. Hierbei stellte sich erwartungsgemäß wiederum der Tumor als größter Einfluss auf das Zytologieergebnis dar ($p < 0,001$). Zudem war nun ein signifikanter Einfluss durch den Harnwegsinfekt festzustellen ($p = 0,0268$).

Quelle	Anzahl Parameter	Freiheitsgrade	L-R Chi-Quadrat	Wahrsch.>Chi ²
HWI	1	1	4,90268353	0,0268
Tumor ja/nein	1	1	592,056888	<,0001
mechan. Manipulation	1	1	3,20939983	0,0732

Tab. 18: Ergebnisse der Effekt-Likelihood-Verhältnistests für Zytologie bei insgesamt 3 Freiheitsgraden

Bei einer weiteren Reduktion der untersuchten Einflussfaktoren blieb nun der Einfluss des Harnwegsinfekts unberücksichtigt und es wurde eine Varianzanalyse allein für die beiden Faktoren mechanische Manipulation und Vorhandensein eines Tumors durchgeführt. In dieser Konstellation zeigte sich für beide Variablen ein signifikanter Einfluss auf die zytologische Befundung.

Quelle	Anzahl Parameter	Freiheitsgrade	L-R Chi-Quadrat	Wahrsch.>Chi ²
Tumor ja/nein	1	1	657,743243	<,0001
mechan. Manipulation	1	1	5,5916397	0,0180

Tab. 19: Ergebnisse der Effekt-Likelihood-Verhältnistests für Zytologie bei insgesamt 2 Freiheitsgraden

3.3.2. UroVysion

3.3.2.1. Einfluss einer Hämaturie auf das Testergebnis

Bei insgesamt 1296 Patienten konnte der Einfluss der Hämaturie auf das Ergebnis des UroVysion-Tests untersucht werden. Dabei wurde bei 979 (75,5%) Patienten eine Hämaturie festgestellt, 317 (24,5%) Patienten hatten keine Hämaturie.

3.3.2.1.1. Einfluss der Hämaturie auf das Ergebnis des UroVysion-Tests bei Patienten ohne Tumornachweis

Es wurden 1065 Patienten untersucht, bei denen histologisch kein Tumor nachgewiesen wurde. Davon hatten 287 Patienten (26,9%) keine Hämaturie, 778 Patienten (73,1%) hatten eine Hämaturie.

Weder in der Gesamtgruppe noch in einer der Subgruppen (Patienten zur Erstdiagnostik/Rezidivsuche) zeigte sich ein wesentlicher Unterschied im Anteil der falsch-positiven zytologischen Befundungen aufgrund einer Hämaturie.

In der Gesamtgruppe aller Patienten ohne Tumor war der UroVysion-Test in 17,4% positiv wenn keine Hämaturie vorlag und in 20,7% positiv wenn eine Hämaturie vorhanden war. Dies ergab keinen signifikanten Unterschied ($p=0,1348$).

Häufigkeiten	UroVysion negativ	UroVysion positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
Hämaturie negativ	237 22,25 27,75 82,58	50 4,69 23,70 17,42	287 26,95
Hämaturie positiv	617 57,93 72,25 79,31	161 15,12 76,30 20,69	778 73,05
	854 80,19	211 19,81	1065

Tab. 20: Kontingenztabelle von Hämaturie nach UroVysion bei tumorfreien Patienten: Angabe der absoluten Patientenzahlen und der prozentualen Anteile

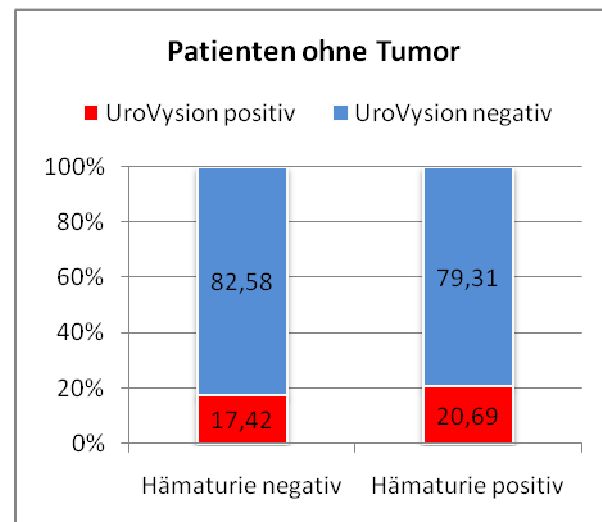


Abb. 22: Anteile der tumorfreien Patienten mit positivem bzw. negativem Ergebnis des UroVysion in Abhängigkeit von Hämaturie: Zahlenangaben in Prozent

In der Subgruppe der Patienten, die zur Erstdiagnostik kamen (n=656) war bei Patienten ohne Hämaturie das Ergebnis des UroVysion-Tests in 9,2% positiv, während bei Patienten mit Hämaturie 14,3% der Ergebnisse positiv waren (p=0,0607).

In der Subgruppe der Patienten, die zur Rezidivsuche kamen (n=409) war bei Patienten ohne Hämaturie das Ergebnis des UroVysion-Tests in 26,9% der Fälle positiv, während bei Patienten mit Hämaturie 32,4% der Ergebnisse positiv waren (p=0,1542).

3.3.2.1.2. Einfluss der Hämaturie auf das Ergebnis des UroVysion-Tests bei Patienten mit Tumornachweis

Unter den 1296 untersuchten Patienten waren 231 Patienten, bei denen in der histologischen Untersuchung ein Tumor nachgewiesen wurde. Davon hatten 30 Patienten (13,0%) keine Hämaturie, 201 Patienten (87,0%) hatten eine Hämaturie.

Unter den Patienten mit Hämaturie war das Ergebnis des UroVysion-Tests in 26,9% negativ, während bei Patienten ohne Hämaturie das Ergebnis des

UroVysion-Tests zu 40,0% negativ war. Dies ergab keinen signifikanten Unterschied ($p=0,1042$).

Häufigkeiten	UroVysion negativ	UroVysion positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
Hämaturie negativ	12 5,19 18,18 40,00	18 7,79 10,91 60,00	30 12,99
Hämaturie positiv	54 23,38 81,82 26,87	147 63,64 89,09 73,13	201 87,01
	66 28,57	165 71,43	231

Tab. 21: Kontingenztabelle von Hämaturie nach UroVysion bei Patienten mit Tumor: Angabe der absoluten Patientenzahlen und der prozentualen Anteile

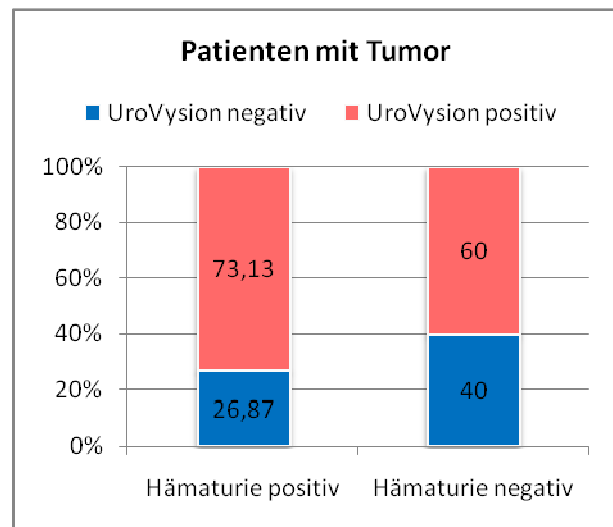


Abb. 23: Anteile der Patienten mit positivem bzw. negativem Ergebnis des UroVysion in Abhängigkeit von Hämaturie: Zahlenangaben in Prozent

In der Subgruppe der Patienten mit oberflächlichem Tumor zeigte sich eine entsprechende Verteilung der Zahlen. Hier waren mit Hämaturie 29,38% der Ergebnisse falsch-negativ. Lag keine Hämaturie vor, war der Anteil falsch-negativer Ergebnisse bei 46,2%.

In die Auswertung der Patienten mit muskelinvasivem Tumor gingen insgesamt nur 32 Patienten ein, von denen nur ein einziger keine Hämaturie zeigte. Dieser hatte ein positives Ergebnis des UroVysion-Tests. In der Subgruppe der Patienten mit Carcinoma in situ waren insgesamt lediglich 13 Patienten.

3.3.2.2. Einfluss eines Harnwegsinfekts auf das Testergebnis

Bei insgesamt 1296 Patienten konnte der Einfluss eines Harnwegsinfekts auf das Ergebnis des UroVysion-Tests untersucht werden. Dabei wurde bei 201 (15,5%) Patienten ein Harnwegsinfekt festgestellt, 1095 (84,5%) Patienten hatten keinen Harnwegsinfekt.

3.3.2.2.1. Einfluss des Harnwegsinfekts auf das Ergebnis des UroVysion-Tests bei Patienten ohne Tumornachweis

Es wurden 1065 Patienten untersucht, bei denen histologisch kein Tumor nachgewiesen wurde. Davon hatten 908 Patienten (85,3%) keinen Harnwegsinfekt, 157 Patienten (14,7%) hatten einen Infekt.

Weder in der Gesamtgruppe noch in einer der Subgruppen (Patienten zur Erstdiagnostik/Rezidivsuche) zeigte sich ein wesentlicher Unterschied im Anteil der falsch-positiven zytologischen Befundungen aufgrund eines Harnwegsinfekts. In der Gesamtgruppe aller Patienten ohne Tumor war das Ergebnis des UroVysion-Tests ohne HWI in 19,8% positiv, genauso häufig waren falsch-positive Ergebnisse bei Patienten mit HWI (19,8%).

Häufigkeiten	UroVysion negativ	UroVysion positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
HWI negativ	728 68,36 85,25 80,18	180 16,90 85,31 19,82	908 85,26
HWI positiv	126 11,83 14,75 80,25	31 2,91 14,69 19,75	157 14,74
	854 80,19	211 19,81	1065

Tab. 22: Kontingenztabelle von Harnwegsinfekt nach UroVysion bei tumorfreien Patienten: Angabe der absoluten Patientenzahlen und der prozentualen Anteile

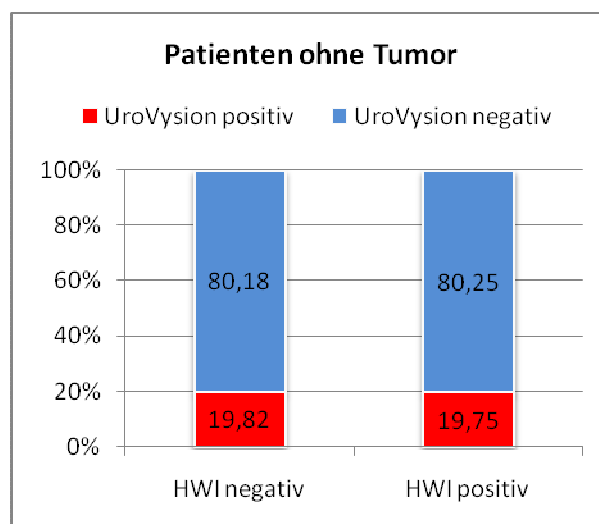


Abb. 24: Anteile der tumorfreien Patienten mit positivem bzw. negativem Ergebnis des UroVysion in Abhängigkeit eines Harnwegsinfekts: Zahlenangaben in Prozent

In der Subgruppe der Patienten, die zur Erstdiagnostik kamen (n=656) war die Anzahl der falsch-positiven Ergebnisse des UroVysion-Tests in beiden Gruppen mit 12,7% (ohne HWI) und 16,1% (mit HWI) fast gleich hoch (p=0,2329).

In der Subgruppe der Patienten, die zur Rezidivsuche kamen, war die Verteilung wie folgt: Bei den Patienten ohne Harnwegsinfekt war das Ergebnis

des UroVysion-Tests in 31,9% positiv, während bei Patienten mit HWI 24,3% der Ergebnisse positiv waren ($p=0,9205$).

3.3.2.2.2. Einfluss des Harnwegsinfekts auf das Ergebnis des UroVysion-Tests bei Patienten mit Tumornachweis

Unter den 1296 untersuchten Patienten waren 231 Patienten, bei denen in der histologischen Untersuchung ein Tumor nachgewiesen wurde. Davon hatten 187 Patienten (81,0%) keinen HWI, 44 Patienten (19,0%) hatten einen HWI.

Auch hier zeigte sich in keiner der untersuchten Gruppen ein signifikanter Einfluss des Harnwegsinfekts auf das Ergebnis des UroVysion-Tests. In der Gesamtgruppe aller Patienten mit Tumornachweis war das Ergebnis des UroVysion-Tests mit Harnwegsinfekt in 18,2% falsch-negativ, während bei Patienten ohne HWI 31,0% der Ergebnisse negativ waren. Dies ergab keinen signifikanten Unterschied ($p=0,0622$) (Abb.25, Tab.23).

In der Subgruppe der Patienten mit oberflächlichem Tumor ($n=186$) zeigte sich eine entsprechende Verteilung der Zahlen. Von den 31 Patienten mit HWI hatten 25,8% ein falsch-negatives Testergebnis, bei den 155 Patienten ohne HWI waren es 32,9%. In die Gruppe der Patienten mit muskelinvasivem Tumor fielen insgesamt nur 32 Patienten. Alle vier Patienten mit negativem Testergebnis hatten keinen Harnwegsinfekt. In der Subgruppe der Patienten mit Carcinoma in situ waren lediglich 13 Patienten. Die insgesamt 3 negativen Ergebnisse im UroVysion-Test stammten alle von Patienten, die keinen Harnwegsinfekt hatten.

Häufigkeiten	UroVysion negativ	UroVysion positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
HWI negativ	58 25,11 87,88 31,02	129 55,84 78,18 68,98	187 80,95
HWI positiv	8 3,46 12,12 18,18	36 15,58 21,82 81,82	44 19,05
	66 28,57	165 71,43	231

Tab. 23: Kontingenztabelle von Harnwegsinfekt nach UroVysion bei Patienten mit Tumor: Angabe der absoluten Patientenzahlen und der prozentualen Anteile

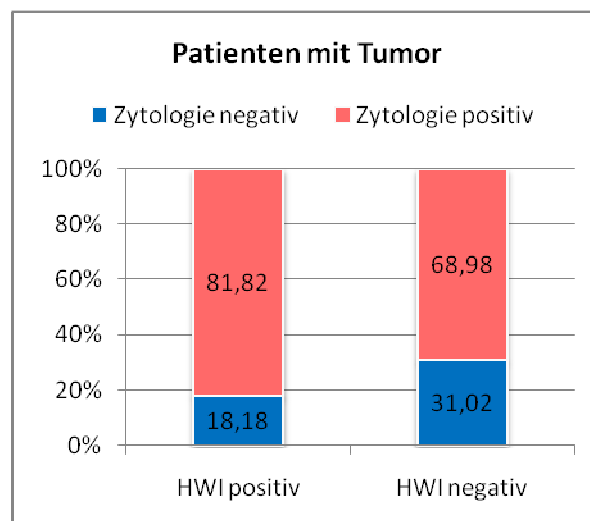


Abb. 25: der Patienten mit positivem bzw. negativem Ergebnis des UroVysion in Abhängigkeit von Harnwegsinfekt: Zahlenangaben in Prozent

3.3.2.3. Einfluss von mechanischer Manipulation bei der Uringewinnung auf das Testergebnis

Bei insgesamt 1268 Patienten konnte der Einfluss einer mechanischen Manipulation bei der Urinentnahme auf das Ergebnis des UroVysion-Tests untersucht werden. Dabei wurde bei 923 (72,8%) Patienten die Urinprobe invasiv entnommen, bei 345 (27,2%) Patienten erfolgte die Uringewinnung nichtinvasiv.

3.3.2.3.1. Einfluss von mechanischer Manipulation auf das Ergebnis des UroVysion-Tests bei Patienten ohne Tumornachweis

Es wurden 1035 Patienten untersucht, bei denen histologisch kein Tumor nachgewiesen wurde. Dabei waren 312 Proben (30,1%) nichtinvasiv gewonnen worden, 723 Proben (69,9%) waren invasiv entnommen worden.

Bei Patienten ohne mechanische Manipulation war das Ergebnis des UroVysion-Tests lediglich in 14,1% falsch-positiv. Wurde die Urinprobe dagegen invasiv entnommen, so war der Anteil positiver Ergebnisse mit 19,4% deutlich höher, obwohl auch hier kein Tumor vorlag ($p=0,0246$).

Häufigkeiten	UroVysion negativ	UroVysion positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
Keine mechan. Manipulation	268	44	312
	25,89	4,25	30,14
	31,49	23,91	
	85,90	14,10	
Mit mechan. Manipulation	583	140	723
	56,33	13,53	69,86
	68,51	76,09	
	80,64	19,36	
	851	184	1035
	82,22	17,78	

Tab. 24: Kontingenztabelle von mechan. Manipulation nach UroVysion bei tumorfreien Patienten: absolute Patientenzahlen und prozentuale Anteile

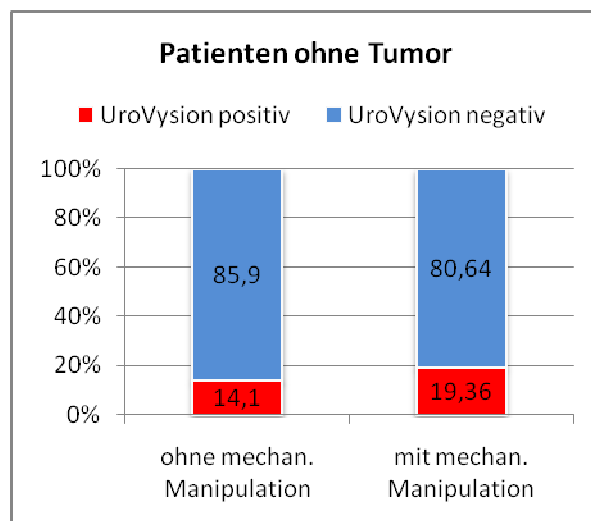


Abb. 26: Anteile der tumorfreien Patienten mit positivem bzw. negativem Ergebnis des UroVysion in Abhängigkeit von mechan. Manipulation: Zahlenangaben in Prozent

In der Subgruppe der Patienten zur Erstdiagnostik konnte im Gegensatz zur Gesamtgruppe kein Unterschied festgestellt werden - ohne invasive Probenentnahme war das Ergebnis des UroVysion-Tests in 13,6% positiv, während bei Patienten mit invasiver Entnahme der Urinprobe mit 11,6% sogar weniger Ergebnisse positiv waren ($p=0,8058$).

Häufigkeiten	UroVysion negativ	UroVysion positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
Keine mechan. Manipulation	152	24	176
	23,31	3,68	26,99
	26,53	30,38	
	86,36	13,64	
Mit mechan. Manipulation	421	55	476
	64,57	8,44	73,01
	73,47	69,62	
	88,45	11,55	
	573	79	652
	87,88	12,12	

Tab. 25: Kontingenztabelle von mechan. Manipulation nach UroVysion in der Subgruppe tumorfreier Patienten zur Erstdiagnostik: Angabe der absoluten Patientenzahlen und der prozentualen Anteile

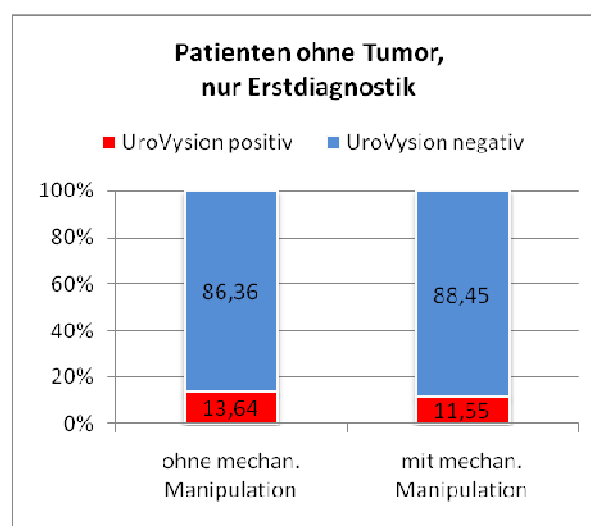


Abb. 27: Subgruppe der tumorfreien Patienten zur Erstdiagnostik. Positives bzw. negatives Ergebnis des UroVysion in Abhängigkeit von mechan. Manipulation: Zahlenangaben in Prozent

In der Subgruppe der Patienten, die zur Rezidivsuche kamen, waren insgesamt 383 Patienten. In dieser Gruppe zeigte sich wiederum ein sehr deutlicher Unterschied im Anteil falsch-positiver Ergebnisse: Bei den Patienten ohne invasive Entnahme der Urinprobe war das Ergebnis des UroVysion-Tests lediglich in 14,7% positiv. Dem gegenüber stehen 34,4% falsch-positive Ergebnisse im UroVysion-Test bei Patienten mit invasiver Entnahme der Urinprobe ($p < 0,001$).

Häufigkeiten	UroVysion negativ	UroVysion positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
Keine mechan. Manipulation	116	20	136
	30,29	5,22	35,51
	41,73	19,05	
	85,29	14,71	
Mit mechan. Manipulation	162	85	247
	42,30	22,19	64,49
	58,27	80,95	
	65,59	34,41	
	278	105	383
	72,58	27,42	

Tab. 26: Kontingenztabelle von mechan. Manipulation nach UroVysion in der Subgruppe tumorfreier Patienten zur Rezidivsuche: Angabe der absoluten Patientenzahlen und der prozentualen Anteile

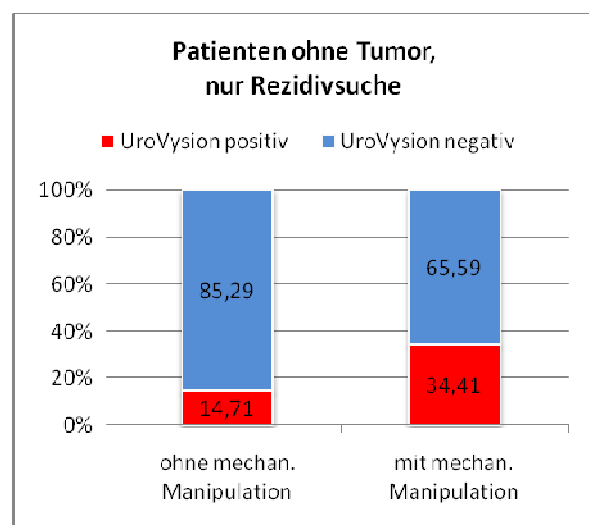


Abb. 28: Subgruppe der tumorfreien Patienten zur Rezidivsuche. Positives bzw. negatives Ergebnis des UroVysion in Abhängigkeit von mechan. Manipulation: Zahlenangaben in Prozent

3.3.2.3.2. Einfluss von mechanischer Manipulation auf das Ergebnis des UroVysion-Tests bei Patienten mit Tumornachweis

Unter den 1268 untersuchten Patienten waren 233 Patienten, bei denen in der histologischen Untersuchung ein Tumor nachgewiesen wurde. Davon waren 33 Proben (14,2%) ohne invasive Maßnahmen, 200 Proben (85,8%) waren durch invasive Maßnahmen gewonnen worden.

Unter den Patienten mit invasiver Urinprobenentnahme war das Ergebnis des UroVysion-Tests mit 28,0% in deutlich weniger Fällen falsch-negativ, als in der Kontrollgruppe ohne invasive Urinentnahme mit 45,4% ($p = 0,0374$).

Bemerkenswert ist hierbei auch, dass trotz des vorhandenen Tumors fast die Hälfte der Testergebnisse negativ war.

Häufigkeiten	UroVysion negativ	UroVysion positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
Keine mechan. Manipulation	15 6,44 21,13 45,45	18 7,73 11,11 54,55	33 14,16
Mit mechan. Manipulation	56 24,03 78,87 28,00	144 61,80 88,89 72,00	200 85,84
	71 30,47	162 69,53	233

Tab. 27: Kontingenztabelle von mechan. Manipulation nach UroVysion bei Patienten mit Tumor: Angabe der absoluten Patientenzahlen und der prozentualen Anteile

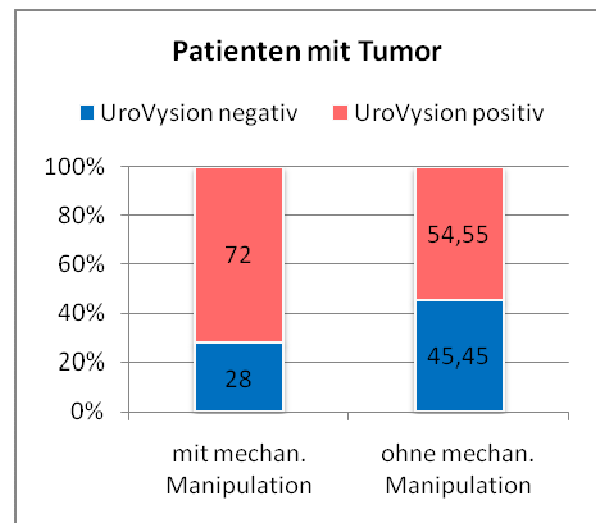


Abb. 29: Anteile der Patienten mit positivem bzw. negativem Ergebnis des UroVysion in Abhängigkeit von mechan. Manipulation: Zahlenangaben in Prozent

In der Subgruppe der Patienten mit oberflächlichem Tumor (n=189) zeigte sich ebenfalls ein Einfluss der mechanischen Manipulation auf das Testergebnis. Während 30,5% der invasiv entnommenen Proben ein negatives Testergebnis erbrachten, waren es bei nichtinvasiv entnommenen Proben 56%.

In die Auswertung der muskelinvasiven Tumoren gingen insgesamt nur 31 Datensätze ein. Davon war bei nur vier Patienten die Urinprobe nichtinvasiv entnommen worden, nur ein Testergebnis war darunter negativ. In der Subgruppe der Patienten mit Carcinoma in situ waren lediglich 13 Patienten. Alle drei negativen Testergebnisse des UroVysion-Tests entfielen auf Patienten, bei denen die Urinentnahme invasiv erfolgt war.

3.3.2.4. *Multivariate Varianzanalyse*

In dieser multivariaten Varianzanalyse war die Zielvariable das Testergebnis des UroVysion-Tests. Die untersuchten Einflussvariablen waren das Vorhandensein eines Tumors sowie alle untersuchten potenziellen Störfaktoren.

Für die gemeinsame Berücksichtigung aller 4 Faktoren konnte ein Patientenkollektiv von n=1211 Patienten herangezogen werden. Im Effekt-Likelihood-Verhältnistest zeigte sich ein signifikanter Einfluss auf den UroVysion-Test nur durch das Vorhandensein eines Tumors ($p < 0,001$). Keiner der untersuchten Störfaktoren Hämaturie, Harnwegsinfekt und die mechanische Manipulation hatte in der multivariaten Analyse einen signifikanten Einfluss auf das Testergebnis (Tab. 28). Für die mechanische Manipulation kann das Ergebnis mit einem p-Wert von 0,0551 als auffällig gewertet werden.

Quelle	Anzahl Parameter	Freiheitsgrade	L-R Chi-Quadrat	Wahrsch.>Chi ²
Tumor ja/nein	1	1	212,709718	<,0001
mechan. Manipulation	1	1	3,67954123	0,0551
Hämaturie	1	1	0,52610069	0,4683
HWI	1	1	1,33796705	0,2474

Tab. 28: Ergebnisse der Effekt-Likelihood-Verhältnistests für UroVysion bei insgesamt 4 Freiheitsgraden

3.3.3. ImmunoCyt/uCyt+

3.3.3.1. Einfluss einer Hämaturie auf das Testergebnis

Bei insgesamt 667 Patienten konnte der Einfluss der Hämaturie auf das Ergebnis des uCyt+-Tests untersucht werden. Dabei wurde bei 503 (75,4%) Patienten eine Hämaturie festgestellt, 164 (24,6%) Patienten hatten keine Hämaturie.

3.3.3.1.1. Einfluss der Hämaturie auf das Ergebnis des uCyt+-Tests bei Patienten ohne Tumornachweis

Es wurden 541 Patienten untersucht, bei denen histologisch kein Tumor nachgewiesen wurde. Davon hatten 144 Patienten (26,6%) keine Hämaturie, 397 Patienten (73,4%) hatten eine Hämaturie.

Der Anteil falsch-positiver Ergebnisse unterschied sich sowohl in der Gesamtgruppe aller Patienten ohne Tumor als auch in allen Subgruppen deutlich, wenn eine Hämaturie vorlag oder nicht:

In der Gesamtgruppe aller Patienten ohne Tumor war der uCyt+-Test lediglich in 11,1% positiv wenn keine Hämaturie bestand. Bei Patienten mit Hämaturie war der uCyt+-Test dagegen in 24,9% positiv ($p=0,0002$).

Häufigkeiten	uCyt+ negativ	uCyt+ positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
Hämaturie negativ	128	16	144
	23,66	2,96	26,62
	30,05	13,91	
	88,89	11,11	
Hämaturie positiv	298	99	397
	55,08	18,30	73,38
	69,95	86,09	
	75,06	24,94	
	426	115	541
	78,74	21,26	

Tab. 29: Kontingenztabelle von Hämaturie nach uCyt+ bei tumorfreien Patienten: Angabe der absoluten Patientenzahlen und der prozentualen Anteile

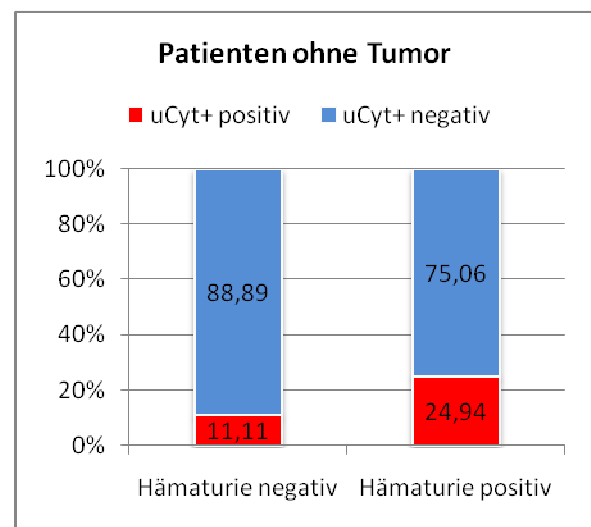


Abb. 30: Anteile der tumorfreien Patienten mit positivem bzw. negativem Ergebnis des uCyt+ in Abhängigkeit von Hämaturie: Zahlenangaben in Prozent

In der Subgruppe der Patienten, die zur Erstdiagnostik kamen ($n=319$) war der Unterschied am stärksten ausgeprägt: Patienten ohne Hämaturie hatten in 4,3% der Fälle ein falsch-positives Ergebnis des uCyt+-Tests, während bei Patienten mit Hämaturie 21,3% der Ergebnisse positiv waren ($p=0,0003$).

Häufigkeiten	uCyt+ negativ	uCyt+ positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
Hämaturie negativ	67 21,00 25,48 95,71	3 0,94 5,36 4,29	70 21,94
Hämaturie positiv	196 61,44 74,52 78,71	53 16,61 94,64 21,29	249 78,06
	263 82,45	56 17,55	319

Tab. 30: Kontingenztabelle von Hämaturie nach uCyt+ in der Subgruppe tumorfreier Patienten zur Erstdiagnostik: Angabe der absoluten Patientenzahlen und der prozentualen Anteile

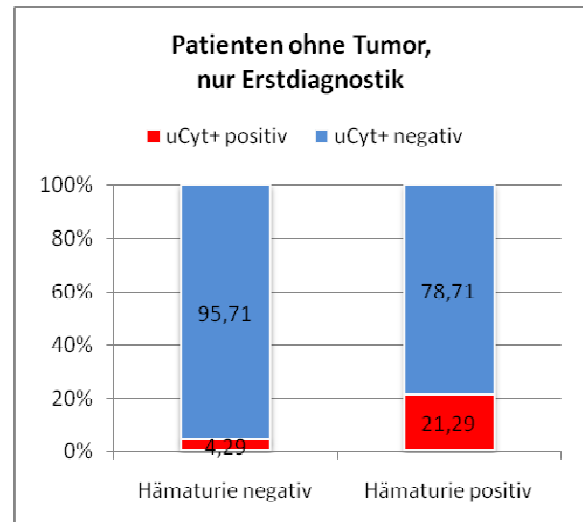


Abb. 31: Subgruppe der tumorfreien Patienten zur Erstdiagnostik. Positives bzw. negatives Ergebnis des uCyt+ in Abhängigkeit von Hämaturie: Zahlenangaben in Prozent

In der Subgruppe der Patienten, die zur Rezidivsuche kamen (n=222) war bei den Patienten ohne Hämaturie das Ergebnis des uCyt+-Tests in nur 17,6% positiv, während bei Patienten mit Hämaturie 31,1% der Ergebnisse positiv waren (p=0,0217).

3.3.3.1.2. Einfluss der Hämaturie auf das Ergebnis des uCyt+-Tests bei Patienten mit Tumornachweis

Unter den 667 untersuchten Patienten waren 126 Patienten, bei denen in der histologischen Untersuchung ein Tumor nachgewiesen wurde. Davon hatten 20 Patienten (15,9%) keine Hämaturie, 106 Patienten (84,1%) hatten eine Hämaturie.

Unter den Patienten mit Tumornachweis zeigte sich in allen Subgruppen ein ebenso ausgeprägter Unterschied über die Hämaturie wie bei Patienten ohne Tumor: In der Gesamtgruppe der Patienten mit Tumor hatten 20,8% ein falsch-negatives Testergebnis wenn eine Hämaturie vorlag, wohingegen Patienten ohne Hämaturie zu 55,0% ein falsch-negatives Ergebnis im uCyt+-Test zeigten

($p=0,0027$). Damit war bei Patienten ohne Hämaturie mehr als die Hälfte der Testergebnisse negativ, obwohl ein Tumor vorlag.

Häufigkeiten	uCyt+ negativ	uCyt+ positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
Hämaturie negativ	11 8,73 33,33 55,00	9 7,14 9,68 45,00	20 15,87
Hämaturie positiv	22 17,46 66,67 20,75	84 66,67 90,32 79,25	106 84,13
	33 26,19	93 73,81	126

Tab. 31: Kontingenztabelle von Hämaturie nach uCyt+ bei Patienten mit Tumor: Angabe der absoluten Patientenzahlen und der prozentualen Anteile

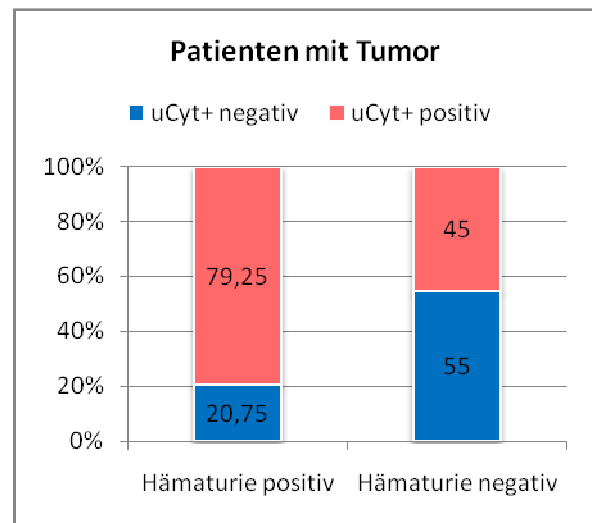


Abb. 32: Anteile der Patienten mit positivem bzw. negativem Ergebnis des uCyt+ in Abhängigkeit von Hämaturie: Zahlenangaben in Prozent

In der Subgruppe der Patienten mit oberflächlichem Tumor ($n=105$) ergab sich mit 22,9% (mit Hämaturie) und 50,0% (ohne Hämaturie) entsprechende Anteile an falsch-negativen Ergebnissen. In die Subgruppe der Patienten mit muskelinvasivem Karzinom gingen lediglich 16 Patienten ein. In der Subgruppe, die nur ein Carcinoma in situ hatte, waren insgesamt nur 5 Patienten.

3.3.3.2. Einfluss eines Harnwegsinfekts auf das Testergebnis

Bei insgesamt 667 Patienten konnte der Einfluss eines Harnwegsinfekts auf das Ergebnis des uCyt+-Tests untersucht werden. Dabei wurde bei 106 (15,9%) Patienten ein Harnwegsinfekt festgestellt, 561 (84,1%) Patienten hatten keinen Harnwegsinfekt.

3.3.3.2.1. Einfluss des Harnwegsinfekts auf das Ergebnis des uCyt+-Tests bei Patienten ohne Tumornachweis

Es wurden 541 Patienten untersucht, bei denen histologisch kein Tumor nachgewiesen wurde. Davon hatten 459 Patienten (84,8%) keinen Harnwegsinfekt, 82 Patienten (15,2%) hatten einen Infekt.

Bei Patienten ohne Harnwegsinfekt war das Ergebnis des uCyt+-Tests in 20,5% positiv. Unwesentlich höher war der Anteil falsch-positiver Ergebnisse bei Patienten mit Harnwegsinfekt (25,6%). Hier zeigte sich kein signifikanter Unterschied ($p=0,1831$).

Häufigkeiten	uCyt+ negativ	uCyt+ positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
HWI negativ	365 67,47 85,68 79,52	94 17,38 81,74 20,48	459 84,84
HWI positiv	61 11,28 14,32 74,39	21 3,88 18,26 25,61	82 15,16
	426 78,74	115 21,26	541

Tab. 32: Kontingenztabelle von HWI nach uCyt+ bei tumorfreien Patienten: Angabe der absoluten Patientenzahlen und der prozentualen Anteile

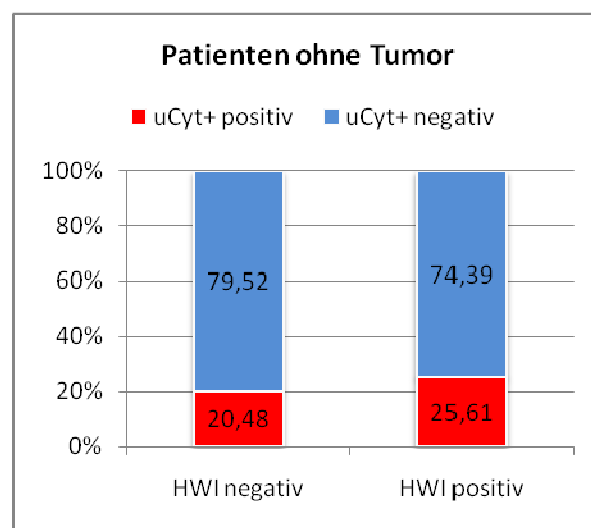


Abb. 33: Anteile der tumorfreien Patienten mit positivem bzw. negativem Ergebnis des uCyt+-Tests in Abhängigkeit eines HWI: Zahlenangaben in Prozent

In der Subgruppen der Patienten, die zur Erstdiagnostik kamen ($n=319$) und die zur Rezidivsuche kamen ($n=222$) ließ sich ebenfalls kein Einfluss des Harnwegsinfekts feststellen: Ohne Harnwegsinfekt waren 16,5% (Erstdiagnostik) bzw. 26,3% (Rezidivsuche) der uCyt+-Tests positiv, mit Harnwegsinfekt war der Anteil falsch-positiver Ergebnisse bei 23,9% (Erstdiagnostik) und 27,8% (Rezidivsuche).

3.3.3.2.2. Einfluss des Harnwegsinfekts auf das Ergebnis des uCyt+-Tests bei Patienten mit Tumornachweis

Unter den 667 untersuchten Patienten waren 126 Patienten, bei denen in der histologischen Untersuchung ein Tumor nachgewiesen wurde. Davon hatten 102 Patienten (81,0%) keinen HWI, 24 Patienten (19,0%) hatten einen HWI.

Weder in der Gesamtgruppe, noch in einer der Subgruppen zeigte sich ein Einfluss des Harnwegsinfekts auf das Testergebnis. In der Gesamtgruppe aller Patienten mit Tumor war das Ergebnis des uCyt+-Tests in 20,8% falsch-negativ wenn ein HWI vorlag, bei Patienten ohne HWI war das Ergebnis des uCyt+-Tests zu 27,4% falsch-negativ ($p=0,3512$).

Häufigkeiten	uCyt+ negativ	uCyt+ positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
HWI negativ	28	74	102
	22,22	58,73	80,95
	84,85	79,57	
	27,45	72,55	
HWI positiv	5	19	24
	3,97	15,08	19,05
	15,15	20,43	
	20,83	79,17	
	33	93	126
	26,19	73,81	

Tab. 33: Kontingenztabelle von Harnwegsinfekt nach uCyt+ bei Patienten mit Tumor: Angabe der absoluten Patientenzahlen und der prozentualen Anteile

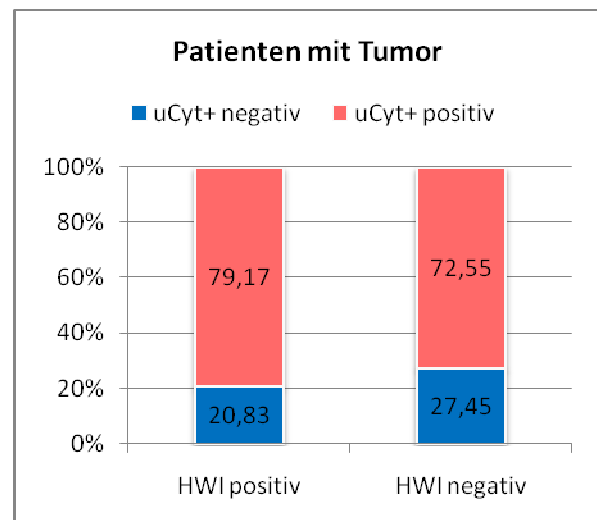


Abb. 34: Anteile der Patienten mit positivem bzw. negativem Ergebnis des uCyt+ in Abhängigkeit von Harnwegsinfekt: Zahlenangaben in Prozent

In der Subgruppe der Patienten mit oberflächlichem Tumor ($n=105$) zeigte sich eine entsprechende Verteilung der Zahlen. Hier war der Anteil der falsch-negativen Ergebnisse bei Patienten mit HWI mit 29,4% sogar höher als bei Patienten ohne HWI (27,3%). Die Gruppe der Patienten mit muskelinvasivem Karzinom umfasste nur 16 Patienten. In der Subgruppe der Patienten, die nur ein Carcinoma in situ hatten, waren lediglich 5 Patienten.

3.3.3.3. Einfluss von mechanischer Manipulation bei der Uringewinnung auf das Testergebnis

Bei insgesamt 691 Patienten konnte der Einfluss einer mechanischen Manipulation bei der Urinentnahme auf das Ergebnis des uCyt+-Tests untersucht werden. Dabei wurde bei 500 (72,4%) Patienten die Urinprobe invasiv entnommen, bei 191 (27,6%) Patienten erfolgte die Uringewinnung nichtinvasiv.

3.3.3.3.1. Einfluss von mechanischer Manipulation auf das Ergebnis des uCyt+-Tests bei Patienten ohne Tumornachweis

Es wurden 560 Patienten untersucht, bei denen histologisch kein Tumor nachgewiesen wurde. Dabei waren 177 Proben (31,6%) nichtinvasiv gewonnen worden, 383 Proben (68,4%) waren invasiv entnommen worden.

Bei Patienten ohne mechanische Manipulation bei der Uringewinnung war das Ergebnis des uCyt+-Tests lediglich in 13,6% positiv. Dagegen hatten 24,3% der Patienten mit mechanischer Manipulation ein falsch-positives Testergebnis ($p=0,0021$).

Häufigkeiten	uCyt+ negativ	uCyt+ positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
Keine mechan. Manipulation	153	24	177
	27,32	4,29	31,61
	34,54	20,51	
	86,44	13,56	
Mit mechan. Manipulation	290	93	383
	51,79	16,61	68,39
	65,46	79,49	
	75,75	24,25	
	443	117	560
	79,11	20,89	

Tab. 34: Kontingenztafel von mechan. Manipulation nach uCyt+ bei tumorfreien Patienten: Angabe der absoluten Patientenzahlen und der prozentualen Anteile

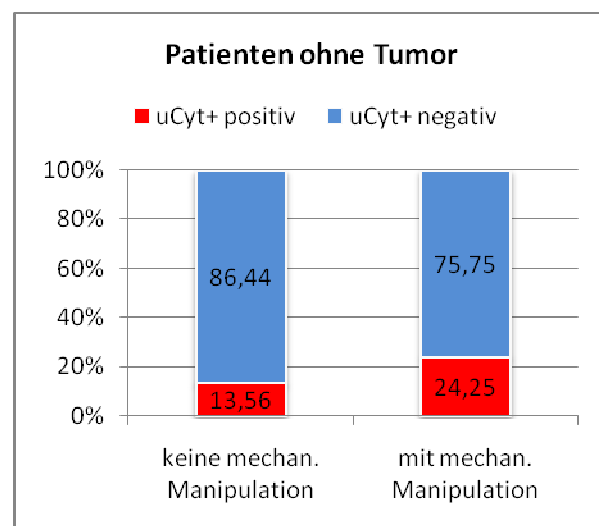


Abb. 35: Positives bzw. negatives Ergebnis des uCyt+ in Abhängigkeit von mechan. Manipulation bei tumorfreien Patienten: Zahlenangaben in Prozent

In der Subgruppe der Patienten, die zur Erstdiagnostik kamen (n=331) war die Verteilung dementsprechend: Bei Patienten ohne invasive Entnahme der Urinprobe war das Ergebnis des uCyt+-Tests lediglich in 8,4% positiv, während bei Patienten mit invasiver Entnahme der Urinprobe 21,2% der Ergebnisse positiv waren ($p=0,0032$).

In der Subgruppe der Patienten, die zur Rezidivsuche kamen (n=229) zeigte sich kein Unterschied in Abhängigkeit von der Invasivität der Uringewinnung. Ohne invasive Entnahme der Urinprobe war der Anteil positiver Ergebnisse des uCyt+-Tests bei 19,5%, mit invasiver Entnahme der Urinprobe waren 29,3% der Ergebnisse positiv. Dies ergab keinen signifikanten Unterschied ($p=0,0710$).

3.3.3.3.2. Einfluss von mechanischer Manipulation auf das Ergebnis des uCyt+-Tests bei Patienten mit Tumornachweis

Unter den 691 untersuchten Patienten waren 131 Patienten, bei denen in der histologischen Untersuchung ein Tumor nachgewiesen wurde. Davon waren 14 Proben (10,7%) ohne invasive Maßnahmen, 117 Proben (89,3%) waren durch invasive Maßnahmen gewonnen worden.

In der Gesamtgruppe aller Patienten mit Tumor war das Ergebnis des uCyt+-Tests in 24,8% falsch-negativ, wenn die Probe invasiv entnommen worden war. Ein deutlich höherer Anteil an falsch-negativen Ergebnissen zeigte sich bei Patienten ohne invasive Urinprobenentnahme mit 57,1% ($p=0,0161$). Damit fiel in dieser Gruppe über die Hälfte der Tests negativ aus, obwohl ein Tumor vorhanden war.

Häufigkeiten	uCyt+ negativ	uCyt+ positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
Keine mechan. Manipulation	8 6,11 21,62 57,14	6 4,58 6,38 42,86	14 10,69
Mit mechan. Manipulation	29 22,14 78,38 24,79	88 67,18 93,62 75,21	117 89,31
	37 28,24	94 71,76	131

Tab. 35: Kontingenztabelle von mechan. Manipulation nach uCyt+ bei Patienten mit Tumor: Angabe der absoluten Patientenzahlen und der prozentualen Anteile

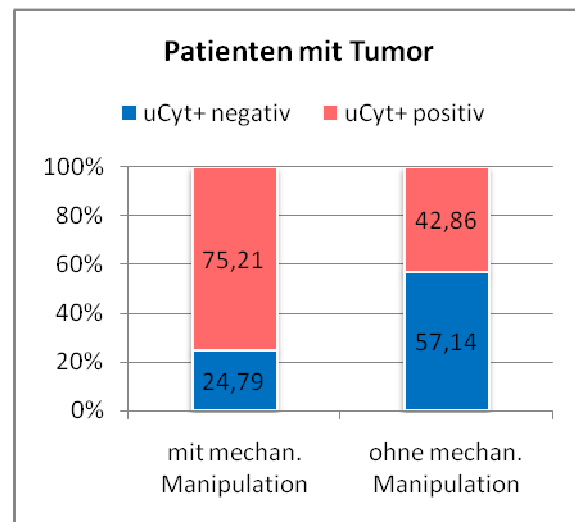


Abb. 36: Anteile der Patienten mit positivem bzw. negativem Ergebnis des uCyt+ in Abhängigkeit von mechan. Manipulation: Zahlenangaben in Prozent

In der Subgruppe der Patienten mit oberflächlichem Tumor (n=110) bildete sich ein entsprechendes Ergebnis ab: War die Urinprobe invasiv entnommen worden, so waren 25,8% der Testergebnisse des uCyt+ negativ. Mit 61,5% falsch-negativen Ergebnissen bei nichtinvasiver Urinentnahme zeigte sich hier sogar noch ein höherer Anteil als in der Gesamtgruppe aller Patienten mit Tumor ($p=0,0126$).

In der Subgruppe der Patienten mit muskelinvasivem Karzinom waren insgesamt nur 16 Patienten, bei allen war die Urinprobe invasiv entnommen worden. Nur ein Carcinoma in situ hatten lediglich 5 Patienten.

3.3.3.4. *Multivariate Varianzanalyse*

In dieser multivariaten Varianzanalyse war die Zielvariable das Testergebnis des uCyt+-Tests. Die untersuchten Einflussvariablen waren das Vorhandensein eines Tumors sowie alle untersuchten potenziellen Störfaktoren. Für die gemeinsame Berücksichtigung aller 4 Faktoren konnte ein Patientenkollektiv von n=660 Patienten herangezogen werden. In einem Effekt-Likelihood-Verhältnistest zeigte sich ein signifikanter Einfluss auf das Testergebnis der

Zytologie durch das Vorhandensein eines Tumors ($p < 0,001$) und durch eine Hämaturie ($p = 0,0001$). Für den Harnwegsinfekt und die mechanische Manipulation konnte in dieser multivariaten Analyse kein signifikanter Einfluss festgestellt werden.

Quelle	Anzahl Parameter	Freiheitsgrade	L-R Chi-Quadrat	Wahrsch.>Chi ²
Tumor ja/nein	1	1	105,000987	<,0001
Hämaturie	1	1	14,7263523	0,0001
HWI	1	1	0,02630483	0,8712
mechan. Manipulation	1	1	3,75577202	0,0526

Tab. 36: Ergebnisse der Effekt-Likelihood-Verhältnistests für uCyt+ bei insgesamt 4 Freiheitsgraden

In einem zweiten Schritt wurde die Hämaturie aus der multivariaten Analyse herausgenommen. Dann wurde eine erneute Varianzanalyse durchgeführt mit den übrigen 2 potenziellen Einflussfaktoren und dem Vorhandensein eines Tumors. Hierbei stellte sich erwartungsgemäß wiederum der Tumor als größter Einflussfaktor auf das Testergebnis dar ($p < 0,001$). Zudem war nun ein signifikanter Einfluss durch mechanische Manipulation festzustellen ($p = 0,0042$).

Quelle	Anzahl Parameter	Freiheitsgrade	L-R Chi-Quadrat	Wahrsch.>Chi ²
Tumor ja/nein	1	1	106,308659	<,0001
HWI	1	1	0,98051824	0,3221
mechan. Manipulation	1	1	8,21350552	0,0042

Tab. 37: Ergebnisse der Effekt-Likelihood-Verhältnistests für uCyt+ bei insgesamt 3 Freiheitsgraden

Nach einer weiteren Reduktion der untersuchten Einflussfaktoren wurde eine Varianzanalyse allein für die beiden Faktoren Harnwegsinfekt und Vorhandensein eines Tumors durchgeführt. Auch hier zeigte sich kein signifikanter Einfluss des Harnwegsinfekts auf den uCyt+-Test.

Quelle	Anzahl Parameter	Freiheitsgrade	L-R Chi-Quadrat	Wahrsch.>Chi ²
Tumor ja/nein	1	1	122,208912	<,0001
HWI	1	1	1,49698522	0,2211

Tab. 38: Ergebnisse der Effekt-Likelihood-Verhältnistests für uCyt+ bei insgesamt 2 Freiheitsgraden

3.3.4. NMP22

3.3.4.1. Einfluss einer Hämaturie auf das Testergebnis

Bei insgesamt 1169 Patienten konnte der Einfluss der Hämaturie auf das Ergebnis des NMP22-Tests untersucht werden. Dabei wurde bei 872 (74,6%) Patienten eine Hämaturie festgestellt, 297 (25,4%) Patienten hatten keine Hämaturie.

3.3.4.1.1. Einfluss der Hämaturie auf das Ergebnis des NMP22-Tests bei Patienten ohne Tumornachweis

Es wurden 944 Patienten untersucht, bei denen histologisch kein Tumor nachgewiesen wurde. Davon hatten 260 Patienten (27,5%) keine Hämaturie, 684 Patienten (72,5%) hatten eine Hämaturie.

Sowohl in der Gesamtgruppe aller Patienten ohne Tumor als auch in allen Untergruppen war der Anteil der falsch-positiven Ergebnisse mit Hämaturie deutlich größer als ohne Hämaturie. Unter allen Patienten ohne Tumor war der NMP22-Test lediglich in 35,8% positiv, wenn keine Hämaturie bestand. Bei Patienten mit Hämaturie betrug der Anteil falsch-positiver Ergebnisse 66,2% ($p < 0,001$).

Häufigkeiten	NMP 22 negativ	NMP 22 positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
Hämaturie negativ	167 17,69 41,96 64,23	93 9,85 17,03 35,77	260 27,54
Hämaturie positiv	231 24,47 58,04 33,77	453 47,99 82,97 66,23	684 72,46
	398 42,16	546 57,84	944

Tab. 39: Kontingenztabelle von Hämaturie nach NMP22 bei tumorfreien Patienten: Angabe der absoluten Patientenzahlen und der prozentualen Anteile

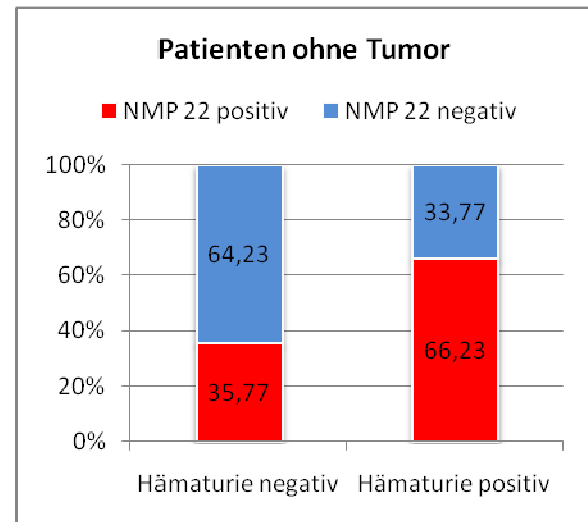


Abb. 37: Anteil der tumorfreien Patienten mit positivem bzw. negativem Ergebnis des NMP22 in Abhängigkeit von Hämaturie: Zahlenangaben in Prozent

3.3.4.1.2. Einfluss der Hämaturie auf das Ergebnis des NMP22-Tests bei Patienten mit Tumornachweis

Unter den 1169 untersuchten Patienten waren 225 Patienten, bei denen in der histologischen Untersuchung ein Tumor nachgewiesen wurde. Davon hatten 37 Patienten (16,4%) keine Hämaturie, 188 Patienten (83,6%) hatten eine Hämaturie.

Hier zeigte sich in allen Gruppen ein entsprechendes Ergebnis wie bei Patienten ohne Tumor, in gleicher Deutlichkeit. In der Gesamtgruppe aller Patienten mit Tumornachweis war das Ergebnis des NMP22-Tests in 20,7% falsch-negativ, wenn eine Hämaturie bestand. Ohne Hämaturie war das Ergebnis des NMP22-Tests zu 54,0% falsch-negativ ($p < 0,001$).

Häufigkeiten	NMP 22 negativ	NMP 22 positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
Hämaturie negativ	20 8,89 33,90 54,05	17 7,56 10,24 45,95	37 16,44
Hämaturie positiv	39 17,33 66,10 20,74	149 66,22 89,76 79,26	188 83,56
	59 26,22	166 73,78	225

Tab. 40: Kontingenztabelle von Hämaturie nach NMP22 bei Patienten mit Tumor: Angabe der absoluten Patientenzahlen und der prozentualen Anteile

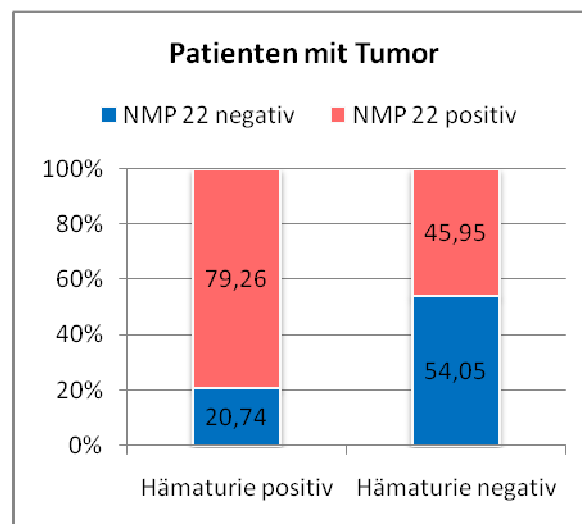


Abb. 38: Anteil der Patienten mit positivem bzw. negativem Ergebnis des NMP22 in Abhängigkeit von Hämaturie: Zahlenangaben in Prozent

In der Subgruppe der Patienten mit oberflächlichem Tumor (n=183) war der Anteil falsch-negativer Ergebnisse bei Patienten mit Hämaturie bei 22,7% und ohne Hämaturie bei 57,6% (p=0,0001). Ein muskelinvasives Karzinom hatten hier nur 32 Patienten, nur einer davon hatte keine Hämaturie. In der Subgruppe der Patienten nur mit Carcinoma in situ waren insgesamt lediglich 10 Patienten.

3.3.4.2. Einfluss eines Harnwegsinfekts auf das Testergebnis

Bei insgesamt 1169 Patienten konnte der Einfluss eines Harnwegsinfekts auf das Ergebnis des NMP22-Tests untersucht werden. Dabei wurde bei 176 (15,1%) Patienten ein HWI festgestellt, 993 (84,9%) Patienten hatten keinen HWI.

3.3.4.2.1. Einfluss des Harnwegsinfekts auf das Ergebnis des NMP22-Tests bei Patienten ohne Tumornachweis

Es wurden 944 Patienten untersucht, bei denen histologisch kein Tumor nachgewiesen wurde. Davon hatten 805 Patienten (85,3%) keinen Harnwegsinfekt, 139 Patienten (14,7%) hatten einen Infekt.

Bei allen Patienten ohne Tumor zeigte sich ein deutlicher Unterschied der Testergebnisse abhängig vom Vorliegen eines HWI. In der Gesamtgruppe war das Ergebnis des NMP22-Tests in 53,2% positiv sofern kein Harnwegsinfekt vorlag. Bei Patienten mit Harnwegsinfekt war das Ergebnis des NMP22-Tests in 84,9% positiv ($p < 0,001$).

Häufigkeiten	NMP 22 negativ	NMP 22 positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
HWI negativ	377	428	805
	39,94	45,34	85,28
	94,72	78,39	
	46,83	53,17	
HWI positiv	21	118	139
	2,22	12,50	14,72
	5,28	21,61	
	15,11	84,89	
	398	546	944
	42,16	57,84	

Tab. 41: Kontingenztabelle von HWI nach NMP22 bei tumorfreien Patienten: Angabe der absoluten Patientenzahlen und der prozentualen Anteile

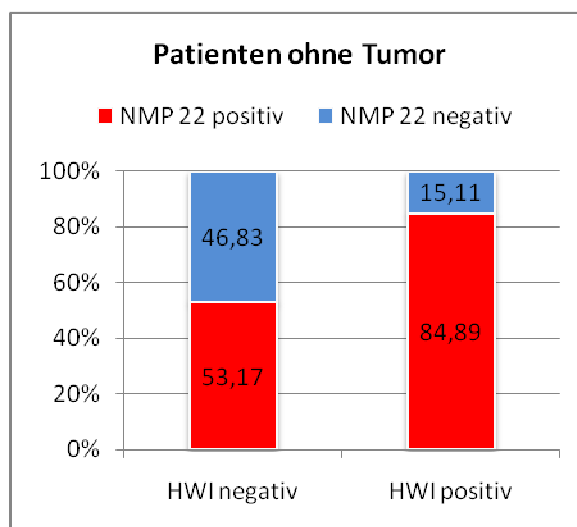


Abb. 39: Anteile der tumorfreien Patienten mit positivem bzw. negativem Ergebnis des NMP22 in Abhängigkeit eines HWI: Zahlenangaben in Prozent

In der Subgruppe der Patienten, die zur Erstdiagnostik kamen ($n=587$) war bei den Patienten ohne HWI das Ergebnis des NMP22-Tests in 54,7% positiv, während bei Patienten mit HWI 82,7% der Ergebnisse positiv waren ($p < 0,001$).

Der deutlichste Unterschied zeigte sich in der Subgruppe der Patienten, die zur Rezidivsuche kamen ($n=357$). Hier war bei den Patienten ohne Harnwegsinfekt das Ergebnis des NMP22-Tests in nur 50,5% positiv, während bei Patienten mit HWI 87,5% der Ergebnisse positiv waren ($p < 0,001$).

3.3.4.2.2. Einfluss des Harnwegsinfekts auf das Ergebnis des NMP22-Tests bei Patienten mit Tumornachweis

Unter den 1169 untersuchten Patienten waren 225 Patienten, bei denen in der histologischen Untersuchung ein Tumor nachgewiesen wurde. Davon hatten 188 Patienten (83,6%) keinen HWI, 37 Patienten (16,4%) hatten einen Infekt.

Auch hier zeigte sich ein deutlicher Einfluss des Harnwegsinfekts auf das Testergebnis. In der Gesamtgruppe aller Patienten mit Tumornachweis war das Ergebnis des NMP22-Tests mit HWI in nur 8,1% falsch-negativ, wohingegen bei Patienten ohne HWI das Ergebnis des NMP22-Tests zu 29,8% falsch-negativ war ($p=0,0032$).

Häufigkeiten	NMP 22 negativ	NMP 22 positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
HWI negativ	56 24,89 94,92 29,79	132 58,67 79,52 70,21	188 83,56
HWI positiv	3 1,33 5,08 8,11	34 15,11 20,48 91,89	37 16,44
	59 26,22	166 73,78	225

Tab. 42: Kontingenztabelle von HWI nach NMP22 bei Patienten mit Tumor: Angabe der absoluten Patientenzahlen und der prozentualen Anteile

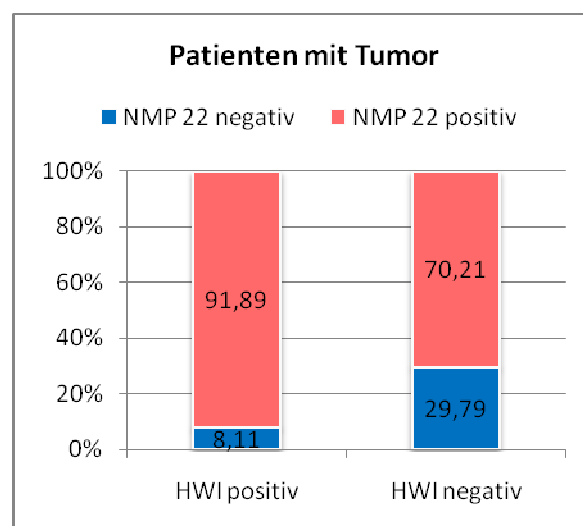


Abb. 40: Anteile der Patienten mit positivem bzw. negativem Ergebnis des NMP22 in Abhängigkeit von HWI: Zahlenangaben in Prozent

In der Subgruppe der Patienten mit oberflächlichem Tumor ($n=183$) waren mit HWI 11,5% der Ergebnisse falsch-negativ und ohne HWI 31,9% ($p=0,0244$).

In der Subgruppe der Patienten mit muskelinvasivem Tumor waren insgesamt nur 32 Patienten. Davon hatten 9 Patienten einen HWI, bei allen zeigte sich ein positives Testergebnis. Nur ein Carcinoma in situ hatten lediglich 10 Patienten.

3.3.4.3. Einfluss von mechanischer Manipulation bei der Uringewinnung auf das Testergebnis

Bei insgesamt 1201 Patienten konnte der Einfluss einer mechanischen Manipulation bei der Urinentnahme auf das Ergebnis des NMP22-Tests untersucht werden. Dabei wurde bei 832 (69,3%) Patienten die Urinprobe invasiv, bei 369 (30,7%) Patienten nichtinvasiv entnommen.

3.3.4.3.1. Einfluss von mechanischer Manipulation auf das Ergebnis des NMP22-Tests bei Patienten ohne Tumornachweis

Es wurden 965 Patienten untersucht, bei denen histologisch kein Tumor nachgewiesen wurde. Dabei waren 317 Proben (32,9%) nichtinvasiv gewonnen worden, 648 Proben (67,2%) waren invasiv entnommen worden.

Sehr deutlich zeichnete sich auch hier in allen Gruppen der unterschiedliche Anteil positiver Ergebnisse über die mechanische Manipulation ab. Bei Patienten ohne mechanische Manipulation war das Ergebnis des NMP22-Tests lediglich in 29,0% falsch-positiv, während bei Patienten mit mechanischer Manipulation das Ergebnis des NMP22-Tests in 69,3% falsch-positiv war ($p < 0,001$).

Häufigkeiten	NMP 22 negativ	NMP 22 positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
Keine mechan. Manipulation	225	92	317
	23,32	9,53	32,85
	53,07	17,01	
	70,98	29,02	
Mit mechan. Manipulation	199	449	648
	20,62	46,53	67,15
	46,93	82,99	
	30,71	69,29	
	424	541	965
	43,94	56,06	

Tab. 43: Kontingenztabelle von mechan. Manipulation nach NMP22 bei tumorfreien Patienten: Angabe der absoluten Patientenzahlen und der prozentualen Anteile

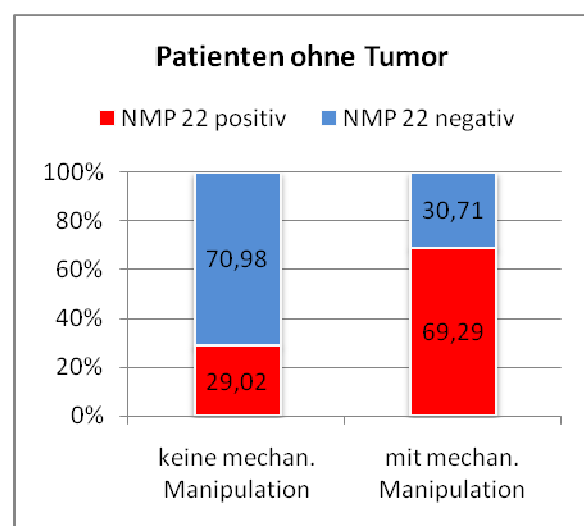


Abb. 41: Positives bzw. negatives Ergebnis des NMP22 in Abhängigkeit von mechan. Manipulation bei tumorfreien Patienten: Zahlenangaben in Prozent

In den Subgruppen der Patienten, die zur Erstdiagnostik kamen (n=601) und die zur Rezidivsuche kamen (n=364), war die Verteilung dementsprechend: Ohne invasive Entnahme der Urinprobe war das Ergebnis des NMP22-Tests lediglich in 31,3% (Erstdiagnostik) bzw. 25,9% (Rezidivsuche) positiv. Wurde die Urinprobe invasiv gewonnen, so war der Anteil falsch-positiver Ergebnisse bei 68,7% (Erstdiagnostik) bzw. 70,3% (Rezidivsuche) (jeweils $p < 0,001$).

3.3.4.3.2. Einfluss von mechanischer Manipulation auf das Ergebnis des NMP22-Tests bei Patienten mit Tumornachweis

Unter den 1201 untersuchten Patienten waren 236 Patienten, bei denen in der histologischen Untersuchung ein Tumor nachgewiesen wurde. Davon waren 52 Proben (22,0%) ohne invasive Maßnahmen, 184 Proben (78,0%) waren durch invasive Maßnahmen gewonnen worden.

Bei allen Patienten mit Tumor stellte sich ein deutlicher Einfluss der mechanischen Manipulation auf das Testergebnis dar: In der Gesamtgruppe aller Patienten mit Tumor war das Ergebnis des NMP22-Tests falsch-negativ in 20,7% der Fälle bei invasiver und 51,9% der Fälle bei nicht-invasiver Urinprobenentnahme ($p < 0,001$).

Häufigkeiten	NMP 22 negativ	NMP 22 positiv	
Gesamt %			
Spalte %			
Zeile %			
Keine mechan. Manipulation	27	25	52
	11,44	10,59	22,03
	41,54	14,62	
	51,92	48,08	
Mit mechan. Manipulation	38	146	184
	16,10	61,86	77,97
	58,46	85,38	
	20,65	79,35	
	65	171	236
	27,54	72,46	

Tab. 44: Kontingenztabelle von mechan. Manipulation nach NMP22 bei Patienten mit Tumor: Angabe der absoluten Patientenzahlen und der prozentualen Anteile

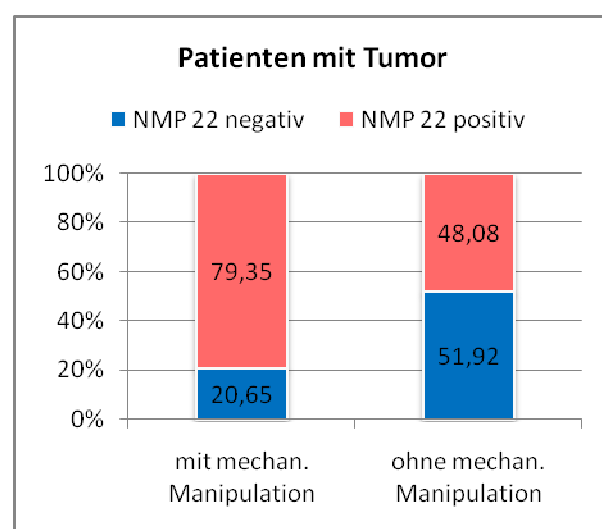


Abb. 42: Anteile der Patienten mit positivem bzw. negativem Ergebnis des NMP22 in Abhängigkeit von mechan. Manipulation: Zahlenangaben in Prozent

In der Subgruppe der Patienten mit oberflächlichem Tumor (n=190) zeigte sich eine entsprechende Verteilung der Zahlen: mit mechanischer Manipulation bei der Urinprobengewinnung waren 24,0% der NMP22-Tests falsch-negativ, bei nichtinvasiver Urinentnahme waren es 57,5% ($p < 0,001$). Ein muskelinvasives Karzinom hatten hier lediglich 35 Patienten, für diese wurde ein dementsprechendes Ergebnis gefunden. In der Subgruppe der Patienten nur mit Carcinoma in situ waren insgesamt nur 11 Patienten.

3.3.4.4. *Multivariate Varianzanalyse*

In dieser multivariaten Varianzanalyse war die Zielvariable das Testergebnis des NMP22-Tests. Die untersuchten Einflussvariablen waren das Vorhandensein eines Tumors sowie alle untersuchten potenziellen Störfaktoren. Für die gemeinsame Berücksichtigung aller 4 Faktoren konnte ein Patientenkollektiv von n=1140 Patienten herangezogen werden. Im Effekt-Likelihood-Verhältnistest zeigte sich ein signifikanter Einfluss auf den NMP22-Test durch alle 3 untersuchten Störfaktoren Hämaturie, Harnwegsinfekt und auch mechanische Manipulation. Der p-Wert war dabei bei allen 3 Faktoren $p < 0,001$. Das Vorhandensein eines Tumors hatte ebenfalls einen Einfluss auf das Testergebnis ($p = 0,0026$).

Quelle	Anzahl Parameter	Freiheitsgrade	L-R Chi-Quadrat	Wahrsch.>Chi ²
Tumor ja/nein	1	1	9,07869963	0,0026
HWI	1	1	34,4394064	<,0001
Hämaturie	1	1	29,3644106	<,0001
mechan. Manipulation	1	1	118,128646	<,0001

Tab. 45: Ergebnisse der Effekt-Likelihood-Verhältnistests für NMP 22 bei insgesamt 4 Freiheitsgraden

3.4. Gesonderte Betrachtung von Urinproben des oberen Harntrakt

Als eine Untergruppe des Gesamtkollektivs waren Datensätze eingegangen, bei denen die Urinentnahme aus dem oberen Harntrakt erfolgt war (n=223). Für die Gruppe, bei der zusätzlich auch Informationen über die mechanische Manipulation bei Entnahme vorlagen (n=29) wurde der Einfluss einer mechanischen Manipulation auf das Ergebnis der jeweiligen Tests noch einmal getrennt untersucht.

Für die Zytologie konnten hierbei n=29 Patienten eingeschlossen werden. Davon hatten 25 Patienten keinen Tumor. 3 Proben waren nichtinvasiv gewonnen worden, bei keiner war das Testergebnis falsch-positiv (0%). Von den 22 invasiv entnommenen Proben ergaben 13,6% ein falsch-positives Ergebnis ($p=0,6696$). Von den 4 Patienten mit Tumor war nur bei einem einzigen die Urinprobe nichtinvasiv entnommen worden, hier war das Testergebnis richtig-positiv.

In die Untersuchung des UroVysion-Tests für Urinproben aus dem oberen Harntrakt gingen 9 Patienten ein, davon hatten 8 keinen Tumor. Unter diesen 8 war nur bei einem einzigen Patienten die Urinprobe nichtinvasiv entnommen worden, hier war das Testergebnis richtig-negativ.

Für den uCyt+-Test konnte keine getrennte Untersuchung für den oberen Harntrakt durchgeführt werden, da hierzu keine Daten vorlagen.

Der NMP22-Test war nur bei 3 Patienten aus Urinproben des oberen Harntrakts durchgeführt worden und konnte so ebenfalls nicht ausgewertet werden.

4. Diskussion

4.1. Nichtinvasive Urindiagnostik

Die molekularen Urinmarkertests sind viel versprechende Biomarker sowohl für die Erstdiagnostik des Blasenkarzinoms als auch in der Rezidivsuche. Dennoch sind sie bisher noch nicht in der klinischen Routine etabliert und wurden auch noch nicht in die allgemeinen Empfehlungen der Guidelines der EAU aufgenommen. Grund dafür ist, dass bisher nicht ausreichend große Studien zur Verfügung stehen und die vorhandenen Studien aufgrund unterschiedlicher Cut-Off-Werte und Studienlayouts schwer miteinander vergleichbar sind (Goebbel et al. 2008). Es gibt keine Standardprotokolle, welche Marker in welchen Kombinationen und in welcher Situation medizinisch und ökonomisch sinnvoll eingesetzt werden können (Budman et al. 2008).

Die in der Literatur berichteten Daten hinsichtlich Spezifität und Sensitivität der Tests differieren stark (Shariat et al. 2006a). Die vorliegende Arbeit soll allerdings nicht die diagnostische Wertigkeit der Tests zum Thema haben, sondern den potenziellen Einfluss von Störfaktoren auf das Testergebnis untersuchen.

4.2. Urindiagnostik und potenziell Einfluss nehmende Parameter

Die Hauptprobleme in der nichtinvasiven Diagnostik des Harnblasenkarzinoms sind nach wie vor die limitierte Wertigkeit der auf dem Markt angebotenen Testverfahren und die mit ihnen verbundenen hohen Kosten (Stenzl et al. 2008). Der von den Kassen erstattete Betrag liegt derzeit bei 18,26€ für die Zytologie, 204,59€ für einen UroVysion-Test, 195,59€ für uCyt+ und 20,11€ für die Durchführung des NMP22-Tests. Für eine Zystoskopie werden momentan 46€ gezahlt (Horstmann et al. 2009). Der Kostenvergleich zwischen den Tests und der Zystoskopie ist jedoch schwierig, da die erstatteten Beträge nicht unbedingt die realen Kosten widerspiegeln und international große Unterschiede bestehen (Horstmann et al. 2009). Sowohl aus medizinischen als

auch ökonomischen Gründen wäre es dringend notwendig, dass die zur Verfügung stehenden Tests nur dann angewandt werden, wenn ihr Einsatz sinnvoll ist und durch sie relevante diagnostische Information gewonnen werden kann. Dies bedeutet, dass für jeden der Tests das zulässige Einsatzgebiet präzise definiert und eingegrenzt sein sollte, in dem er ein verlässliches Ergebnis erbringen kann.

Die kritische Betrachtung der in dieser Arbeit untersuchten Parameter als Ein- und Ausschlusskriterien der einzelnen Tests kann dieser Eingrenzung dienen. Sie beleuchtet damit die Aussagefähigkeit der Tests vor dem Hintergrund der erlaubten Einflussvariablen.

Von besonderer Bedeutung ist dabei, dass ein Patientenkollektiv ausgewertet wird, das in demografischer Hinsicht exakt dem Kollektiv entspricht, für das die Diagnostik des Harnblasenkarzinoms zur Anwendung gelangen soll. Folglich sind die zu treffenden Aussagen weniger gültig für ein Kollektiv entsprechend der Gesamtbevölkerung als mehr für die Gruppe von Patienten, die zur Abklärung eines Verdachts auf ein Blasenkarzinom vorstellig werden.

Dabei sind hauptsächlich die passende Alters- und Geschlechtsverteilung sowie hier in besonderem Maße der hohe Anteil der Patienten mit begleitender Hämaturie oder Harnwegsinfekt von Bedeutung. Es sollten in der vorliegenden Arbeit bei der Bewertung der Ergebnisse diejenige Subgruppe, die diesem Kollektiv entspricht, vorrangig diskutiert werden.

Durch die Bildung weiterer Subgruppen im Rahmen der Auswertung der Testergebnisse sind die resultierenden Rückschlüsse dann für einzelne speziellere Konstellationen gesondert geprüft worden.

4.3. Eigenschaften des Patientenkollektivs

4.3.1. Alters- und Geschlechterverteilung

Die Altersverteilung des untersuchten Kollektivs mit einem Durchschnittsalter von 64,7 Jahren und einem Erkrankungsgipfel zwischen 52 und 77 Jahren

entspricht den in der Literatur beschriebenen Altersverteilungen (Gupta et al. 2009). Das Harnblasenkarzinom gilt als eine Erkrankung des älteren Patienten, wenngleich immer wieder Fälle von sehr jungen Patienten vorkommen, so auch im vorliegenden Kollektiv. Dabei ist ein genetischer Hintergrund zu vermuten und es ist hier häufiger ein niedrigmaligner Verlauf zu beobachten (Gupta et al. 2009). Wild et al. berichten, dass genetische Aberrationen bei jungen Patienten seltener festgestellt werden konnten als bei älteren Patienten (Wild et al. 2007).

Die Geschlechterverteilung des untersuchten Kollektivs entspricht mit einem Verhältnis von Männern zu Frauen von 3:1 der typischen Geschlechterverteilung bei Harnblasenkarzinomen (Kaufman et al. 2009). Als Ursachen für das deutlich häufigere Auftreten von Urothelkarzinomen bei Männern kann der höhere Anteil an Rauchern genannt werden (Gupta et al. 2009). Nikotinabusus hat als stärkster Risikofaktor einen großen Einfluss auf die Entstehung von Harnblasenkarzinomen. Auch die berufliche Exposition gegenüber Karzinogenen ist bei Männern zu einem deutlich höheren Prozentsatz vertreten (Gupta et al. 2009).

Bei Frauen wird zwar die Gesamtzahl der Erkrankten geringer berichtet als bei Männern, dafür wird hier allerdings ein im Vergleich schwererer Verlauf beobachtet. Dies könnte zum einen daran liegen, dass bei Frauen neben einer Hämaturie gynäkologische Erkrankungen wie beispielsweise Uteruskarzinome, Kolpitiden oder auch hormonelle Störungen als Blutungsursache in Frage kommen und die Differentialdiagnosen häufiger sind als Blasenkarzinome (Cardenas-Turanzas et al. 2006). Damit wird die Diagnose eines Harnblasenkarzinoms oft später gestellt. Zum anderen könnte der Anteil aggressiver Tumoren bei Frauen aufgrund genetischer Faktoren grundsätzlich höher sein als bei Männern (McGrath et al. 2006).

4.3.2. Lokalisation und Tumorstadium

Bei insgesamt 23% der Patienten des Gesamtkollektivs wurde ein Urothelkarzinom nachgewiesen. Dieser hohe Anteil entspricht in keiner Weise dem epidemiologischen Vorkommen des Blasenkarzinoms in der

Gesamtbevölkerung, sondern spiegelt die gesonderte Betrachtung eines Patientenkollektivs mit Verdacht auf Blasen-Tumor wider. In die Auswertung gingen auch Patienten ein, die in der Vorgeschichte bereits ein Urothelkarzinom gehabt hatten und die im Rahmen der Rezidivdiagnostik untersucht wurden. Aus diesem Teil des Patientenguts war ein besonders hoher Anteil an Tumor tragenden Patienten zu erwarten.

Die Differenzierung der Tumoren nach ihrem Stadium ergab eine Verteilung von 75% oberflächlichen Tumoren zu 25% muskelinvasiven Tumoren. Dies entspricht der allgemein beschriebenen Verteilung in den Guidelines der EAU (Babjuk et al. 2008).

4.3.3. Auftreten von Hämaturie und HWI in Verbindung mit einem Harnblasenkarzinom

Im untersuchten Patientenkollektiv zeigte sich ein Anteil der Patienten mit Hämaturie von 74,8%. Dieser hohe Prozentsatz erklärt sich dadurch, dass gerade die bestehende Hämaturie in vielen Fällen der Grund für einen Tumorverdacht ist und die onkologische Abklärung hieraus resultiert. Es zeigt sich jedoch, dass weniger als ein Viertel der Patienten mit Hämaturie und Tumorverdacht ein Urothelkarzinom haben (24,3%). Dies entspricht der Tatsache, dass für eine Hämaturie eine breite Differentialdiagnostik in Frage kommt.

Bei der Betrachtung allein der tumortragenden Patienten fällt auf, dass der Anteil von Patienten mit Hämaturie mit dem Tumorstadium steigt. Grund dafür kann sein, dass invasive Tumoren gesundes Gewebe zerstören und auch zuführende Gefäße arrodieren, aus denen dann vermehrte Blutungen auftreten.

Obwohl der Anteil von Patienten mit Harnwegsinfekt bei Patienten mit Tumor dem Anteil bei Patienten ohne Tumor entsprach (18,3%), war das Vorliegen eines Harnwegsinfekts abhängig vom Tumorstadium. Über ein Drittel (33,8%) der Patienten mit invasivem Karzinom hatten einen HWI. Ein Grund dafür könnte sein, dass ein Teil der Harnwegsinfekte tumorassoziiert ist.

Möglicherweise werden in bestimmten Tumoren Faktoren – beispielsweise S100A8, ein „chemoattractant“ - verstärkt exprimiert, die in normalem Urothel nicht vorkommen und die eine Entzündungsreaktion auslösen und selbst unterhalten können (Tolson et al. 2006; Hiratsuka et al. 2008).

4.4. Diagnostik mittels Harnmarkertests

Im Vergleich zur Zystoskopie, dem Goldstandard der Diagnostik des Harnblasenkarzinoms, liegen die Vorteile der Urinmarkerdiagnostik in der einfachen und vor allem nichtinvasiven Gewinnung von Probenmaterial. Dennoch muss im Rahmen der klinisch üblichen Diagnostik in unterschiedlichem Maß mit einer mechanischen Manipulation bei der Uringewinnung gerechnet werden, beispielsweise durch das Legen eines Blasenkatheters.

4.4.1. Invasivität der Urinprobenentnahme

Mit 65,1% ist der Anteil der invasiv entnommenen Urinproben im gesamten Untersuchungskollektiv relativ hoch. Um einem bestehenden Tumorverdacht nachzugehen wurde in vielen Fällen eine Zystoskopie durchgeführt, im Rahmen derer dann Urinproben für die Biomarkerbestimmung entnommen wurden. Diese Charakteristik des vorliegenden Patientenkollektivs muss berücksichtigt werden, wenn der Einsatz der Urinmarker in der Praxis evaluiert werden soll und hier hauptsächlich nichtinvasiv gewonnene Urinproben zur Verfügung stehen. Für diesen Fall sollten vorrangig nur die Auswertungen der Subgruppen mit nichtinvasiver Urinentnahme beachtet werden.

4.4.2. Harnmarkertests

Die Urinzytologie wurde im Untersuchungszeitraum mit Abstand am häufigsten durchgeführt. Sie ist eine anerkannte Methode, die fester Bestandteil der klinischen Routine ist. Zudem ist sie mit geringen Kosten verbunden. Im Gegensatz dazu sind die anderen Biomarkertests apparativ aufwändig und deutlich teurer. Dass sie seltener eingesetzt wurden mag auch daran liegen, dass ihr Einsatz bisher nicht in der Routinediagnostik des Harnblasenkarzinoms verankert ist.

Die Verbreitung des NMP22-Test und des UroVysion-Test ist mittlerweile gestiegen, mit 57,9% und 52,1% wurden sie bei über der Hälfte der Patienten eingesetzt. Der uCyt+-Test ist der neueste unter den Tests, er wurde erst 1997 entwickelt. In der vorliegenden Studie wurde er dementsprechend am seltensten durchgeführt.

4.5. Zusammenhang der Einflussparameter mit den Ergebnissen der Urintests

4.5.1. Einfluss einer Hämaturie auf das Testergebnis

4.5.1.1. Zytologie

In der Befundung der zytologischen Präparate wird nur die Morphologie urothelialer Zellen betrachtet, im Präparat vorhandenes Blut sollte das Zellbild der Urothelien nicht verändern. Aus diesem Blickwinkel dürfte eine bestehende Hämaturie eigentlich keinen Einfluss auf das Ergebnis der Urinzytologie haben.

Im untersuchten Patientenkollektiv fanden sich erstaunlicherweise wesentlich mehr falsch-positive Ergebnisse bei Patienten mit Hämaturie als ohne Hämaturie. Der Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen war signifikant. Dabei fiel auf, dass dies in besonderem Maße für solche Patienten gilt, die zur Rezidivsuche kamen. Bei den Patienten zur Erstdiagnostik konnte kein Unterschied festgestellt werden. In der Gruppe der tumortragenden Patienten zeigte sich wiederum ein signifikanter Unterschied: Bei Patienten ohne Hämaturie war das Ergebnis deutlich häufiger falsch-negativ als mit Hämaturie. Eine Hämaturie scheint also vor allem dann Einfluss auf die zytologische Befundung zu haben, wenn ein Tumor aktuell vorliegt oder in der Vorgeschichte beschrieben war.

Eine Erklärung der Ergebnisse in der Rezidivdiagnostik könnte sein, dass bei solchen Patienten im Zeitraum vor der Testdurchführung teilweise bereits intravesikale Therapien durchgeführt worden waren (BCG-Instillationen, Mitomycin-Therapie,...). Diese Einflüsse könnten über eine Irritation des

Urothels sowohl die Hämaturie bewirken als auch für eine veränderte Zellmorphologie verantwortlich sein, was in falsch-positiven Ergebnissen resultieren kann. Dieselbe Erklärung ist denkbar bei Patienten, die invasiven Untersuchungen oder operativen Therapien unterzogen worden waren.

4.5.1.2. *UroVysion*

Theoretisch dürfte eine Hämaturie keinen Einfluss auf das Testergebnis des UroVysion haben, da in der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung lediglich chromosomale Aberrationen in Zellkernen untersucht werden. Da reife Erythrozyten keine Zellkerne haben, können sie auch keine Verfälschung des Testergebnisses bewirken. Allerdings können bei aktivierten Urothelien gelegentlich chromosomale Aberrationen vorkommen, die dann möglicherweise auf den UroVysion-Test Einfluss nehmen könnten (Veeramachani et al. 2003).

In der vorliegenden Arbeit bestätigte sich die potenzielle Möglichkeit, dass bei Patienten mit Hämaturie ein erhöhter Anteil falsch-positiver Testergebnisse auftreten könnte, nicht. Auch zeigt sich bei Patienten ohne Hämaturie keine Erhöhung der falsch-negativen Ergebnisse. Durchgehend und in allen untersuchten Kollektiven scheint also eine Hämaturie keinen Einfluss auf das Testergebnis des UroVysion zu haben.

4.5.1.3. *uCyt+/ImmunoCyt*

Weder der Tumormarker CEA noch Mucin dürfte aufgrund einer Hämaturie im Urin erhöht sein, da beide Marker als spezifische Tumorantigene von Urothelkarzinom-Zellen beschrieben werden.

Überraschenderweise war dennoch in der Gesamtgruppe und auch in allen Subgruppen die Testergebnisse dann deutlich häufiger falsch-positiv, wenn eine Hämaturie bestand. Parallel dazu waren bei Patienten, die keine Hämaturie hatten, vermehrt falsch-negative Testergebnisse zu verzeichnen. In allen Auswertungen zeigte sich damit eine Beeinflussung des Testergebnisses durch die Hämaturie.

Da der uCyt+-Test eng mit der Urinzytologie zusammenhängt, ja sogar nur in Kombination mit dieser auf dem Markt zugelassen ist, ist es denkbar, dass hier dieselben Gründe für die falsch-positiven und falsch-negativen Testergebnisse verantwortlich sind. Die spezifischen nachzuweisenden Tumorantigene dürften nicht erhöht sein aufgrund einer Hämaturie.

4.5.1.4. *NMP22*

Theoretisch sollte NMP22 als Transkriptionsfaktor im Urin durch eine Hämaturie nicht erhöht sein. Atsü et al. konnten jedoch in einer experimentellen Studie an 82 Patienten einen Einfluss der Hämaturie auf das Testergebnis nachweisen, wobei die Hämaturie durch Zugabe von Eigenblut zur Urinprobe simuliert worden war (Atsü et al. 2002). Dennoch ist die Hämaturie nicht als Ausschlusskriterium definiert für diesen Test, es liegen auch bisher keine Daten von größeren Patientenkollektiven zum Einfluss einer Hämaturie vor.

In dieser Arbeit hatte die Fraktion der Patienten mit Hämaturie deutlich häufiger ein falsch-positives Testergebnis. Entsprechend waren bei Patienten ohne Hämaturie vermehrt falsch-negative Ergebnisse vorhanden. Der Einfluss der Hämaturie stellte sich in allen Subgruppen als so stark dar, dass dabei die Frage aufkommt, welchen diagnostischen Wert die Durchführung des NMP22-Tests bei Patienten mit Hämaturie haben kann.

Da Erythrozyten keine Zellkerne enthalten können sie auch keine Erhöhung des in der Probe vorhandenen NMP22 bewirken. Andere Erklärungsmöglichkeiten für diese Ergebnisse kommen stattdessen in Frage: Erythrozytäre Membranfaktoren könnten in einer Kreuzreaktion ebenfalls durch den Test erkannt werden (Telen und Kaufman, 1998). Oder es gelangen trotz Filterung Erythrozyten in die Probe, die photospektrometrisch gemessen wird, und bewirken hier einen Farbunterschied (Burtis 1987). Eine weitere Erklärungsmöglichkeit wäre, dass Serumproteine für die erhöhten Werte verantwortlich sind (Atsü et al. 2002).

4.5.2. Einfluss eines Harnwegsinfekts auf das Testergebnis

4.5.2.1. Zytologie

Im Gegensatz zur Hämaturie liegt ein potenzieller Einfluss des Harnwegsinfekts auf die zytologische Befundung eher nahe, da die entzündlich veränderten Urothelien in ihrer Morphologie verändert sind (Savic et al. 2009).

4.5.2.1.1. Falsch-positive und falsch-negative Testergebnisse

Es wurden wesentlich mehr Patienten falsch-positiv befundet, wenn sie einen Harnwegsinfekt hatten. Bei den falsch-negativen Testergebnissen zeigte sich dagegen kein Unterschied zwischen den Patienten mit Harnwegsinfekt oder ohne – im Gegensatz zu den Verhältnissen bei Hämaturie. Ein Einfluss des Harnwegsinfekts auf die Zytologie stellt sich hier also nur in der Erhöhung der falsch-positiven Ergebnisse dar.

4.5.2.1.2. Potenziell tumorbedingter HWI und dessen Auswirkungen auf die Tests

Wahrscheinlich erzeugt der Harnwegsinfekt mit aktivierten Urothelien ein morphologisches Bild in der zytologischen Befundung, das dem Bild eines Tumors sehr ähnlich ist. Dies könnte die gehäuften falsch-positiven Ergebnisse ebenso erklären, wie die Tatsache, dass bei vorhandenem Tumor keine gehäuften falsch-negativen Ergebnisse entstehen. Dass in den beiden Untergruppen ‚Erstdiagnostik‘ und ‚Rezidivsuche‘ kein signifikanter Unterschied vorlag – im Gegensatz zur Gesamtgruppe, die die Summe der beiden Untergruppen war -, könnte daran liegen, dass hier schlicht die Fallzahlen kleiner waren und deshalb keine Signifikanz herausgebildet wurde. Dafür spricht der dennoch relativ niedrige p-Wert von 0,0861.

Eine andere Erklärung für falsch-positive und falsch-negative Testergebnisse wäre die Möglichkeit eines tumorbedingten Harnwegsinfekts. Tolson et al. berichten über verschiedene Faktoren wie das Protein S100A8, das massiv verstärkt in Urothelkarzinom-Zellen nachgewiesen werden konnte und das mit Entzündungsreaktionen assoziiert ist (Tolson et al. 2006). Die Möglichkeit

besteht, dass diese tumorassoziierten Faktoren für die Entwicklung des Harnwegsinfekts verantwortlich sind.

4.5.2.2. *UroVysion*

Entsprechend der Hämaturie ist auch für den Harnwegsinfekt eine Beeinflussung des FISH eher unwahrscheinlich. Dennoch wäre ein Einfluss auf das Testergebnis durch chromosomale Aberrationen in entzündlich veränderten Urothelien potenziell möglich.

In der Auswertung der Daten zeigte sich kein signifikanter Anstieg des Anteils falsch-positiver Ergebnisse in Zusammenhang mit dem Vorliegen eines Harnwegsinfekts. Auch bei Patienten ohne HWI war der Anteil falsch-negativer Tests nicht erhöht. Der UroVysion-Test scheint also durch Harnwegsinfekte nicht beeinflusst zu werden.

4.5.2.3. *uCyt+*

Vom Hersteller DiagnoCure ist die Anwendung des uCyt+-Tests bei Patienten mit Harnwegsinfekt nicht beschränkt. Dennoch wurden in mehreren Studien zum uCyt+-Test Patienten mit HWI ausgeschlossen, da eine Beeinflussung des Testergebnisses vermutet wurde (Greene et al. 2006, Toma et al. 2004, Soyuer et al. 2009). Ob dieser tatsächlich einen Einfluss auf das Testergebnis hat, ist bisher jedoch nicht belegt. Eine Erhöhung von CEA durch die Inflammation ist wenig wahrscheinlich. Das nachzuweisende Mucin könnte dagegen durchaus erhöht sein im Rahmen eines Infekts.

Als Ergebnis dieser Untersuchung lässt sich festhalten, dass bei Patienten mit Harnwegsinfekt die Rate falsch-positiver Ergebnisse nicht erhöht ist. Die Anzahl der falsch-negativen Ergebnisse ist bei Patienten ohne HWI ebenfalls nicht erhöht. Der Harnwegsinfekt scheint also keinerlei Einfluss zu haben auf das Testergebnis.

Das tumorassoziierte Mucin unterscheidet sich möglicherweise von dem inflammatorisch bedingten Mucin so stark, dass dieses durch den Test nicht

erkannt wird. In Folge dieser Ergebnisse kann diskutiert werden, ob ein Harnwegsinfekt tatsächlich als Ausschlusskriterium für den uCyt+-Test gerechtfertigt ist.

4.5.2.4. *NMP22*

Für den NMP22-Test werden vom Hersteller Matritech mögliche erhöhte Werte bei massiven Harnwegsinfekten beschrieben. Sharma et al. berichteten 1999 eine Erhöhung der falsch-positiven Testergebnisse durch einen Infekt. Allerdings war dieser Einfluss im Gegensatz zu anderen Störfaktoren gering und wurde deshalb als „relatives Ausschlusskriterium“ gewertet (Sharma et al. 1999). Atsü et al. sahen 2002 keinen Einfluss auf das Testergebnis bei Patienten mit Tumor, sehr wohl aber bei tumorfreien Patienten (Atsü et al. 2002). In einer großen Studie mit 1331 Patienten zeigte sich bei Grossman et al. eine Verringerung der Spezifität durch einen HWI von 90% auf 77,6% (Grossman et al. 2005) – allerdings für den Schnelltest ‚NMP22 bladder check‘.

In der vorliegenden Arbeit zeigte sich bei Patienten mit HWI eine sehr starke Häufung falsch-positiver Ergebnisse. Parallel dazu war bei Patienten ohne Harnwegsinfekt die Erhöhung der Rate falsch-negativer Ergebnisse signifikant. Der Harnwegsinfekt scheint also einen gewichtigen Einfluss auf das Testergebnis zu haben. Ursächlich kann hier vermutet werden, dass NMP22 aus den Zellkernen der Leukozyten in die Messung mit eingeht.

4.5.3. Einfluss von invasiver Uringewinnung auf das Testergebnis

4.5.3.1. *Kinetik der Auswirkungen mechanischer Manipulation*

Für die mechanische Manipulation bei der Uringewinnung ist zu bedenken, dass die Auswirkung auf einen Test zeitlich engen Grenzen unterliegt. Innerhalb der - meist kurzen - Zeitspanne vom Beginn der mechanischen Beeinträchtigung des Urothels bis zur Gewinnung des diagnostischen Urins müsste der Einfluss auf die im Test detektierten Eigenschaften erfolgt sein. Dies gilt selbstverständlich für alle Urinmarkertests.

4.5.3.2. *Zytologie*

Es ist nicht anzunehmen, dass eine invasive Urinentnahme die Morphologie der Zellen so schnell verändern kann, dass sich dies in der zytologischen Befundung auswirkt. Allerdings liegen über die Geschwindigkeit der Veränderungen von Zellen auf mechanische Manipulation keine Daten vor.

Interessanterweise zeigen Zytologien nach invasiver Urinentnahme in der vorliegenden Studie wesentlich häufiger falsch-positive Ergebnisse. Besonders ausgeprägt scheint der Einfluss in der Subgruppe der Patienten zur Rezidivsuche zu sein, während in der Erstdiagnostik kein signifikanter Unterschied gesehen werden konnte. Nichtinvasiv gewonnene Proben waren dagegen nicht wesentlich häufiger falsch-negativ als invasiv gewonnene Proben.

Es sieht so aus, dass der Zeitraum des operativen Eingriffs doch ausreicht für eine morphologische Veränderung der Urothelzellen. Diese Modifikation des Zellbildes scheint tumorähnlich zu sein. Dass der Effekt in der Rezidivdiagnostik besonders ausgeprägt ist, kann mit einer wahrscheinlichen früheren mechanischen Irritation des Urothels zusammenhängen. Dies entspricht auch den Ergebnissen von Savic et al., die nach intravesikaler Therapie gehäuft falsch-positive Ergebnisse in der Urinzytologie beobachtet haben (Savic et al. 2009).

4.5.3.3. *UroVysion*

Für eine Beeinflussung des UroVysion-Tests müssten sich im Rahmen des invasiven Eingriffs Änderungen auf chromosomaler Ebene ergeben. Analog zum Umbau der Zellmorphologie durch invasive Maßnahmen ist eine solche Veränderung in kurzer Zeit eher unwahrscheinlich, wobei auch hier keine Angaben über die Geschwindigkeit vorliegen.

Interessanterweise sind in der Auswertung der Daten Urinproben aus invasiver Uringewinnung häufiger falsch-positiv. Dies gilt allerdings nur und in besonderem Maße für Patienten, die zur Rezidivdiagnostik kommen.

Bemerkenswert ist auch das dementsprechende Ergebnis in der Gruppe der Patienten mit Tumor, in der bei nichtinvasiver Urinentnahme deutlich häufiger falsch-negative Ergebnisse statiert wurden.

Bei Patienten mit Vorgeschichte sind - im Gegensatz zu Patienten, die zur Erstdiagnostik kommen - aufgrund von diagnostischen und therapeutischen Eingriffen bereits veränderte Epithelien vorhanden. Möglich wäre nun, dass diese bereits vorhandenen, veränderten Epithelzellen durch die invasive Urinentnahme besonders zahlreich in die Probe gelangen, sei es durch Spülung, Abschilferung oder auch assistiertes Abschilfern.

Eventuell gelangen auf diese Weise auch maligne Zellen in die Urinprobe, die von einem in der Zystoskopie noch nicht erkennbaren Tumor stammen. Damit könnte die erhöhte Rate falsch-positiver Ergebnisse mit einer zeitlich früheren Erkennung von Tumoren als in der zystoskopischen Kontrolle in Zusammenhang stehen.

4.5.3.4. *uCyt+*

Für einen bestimmten Anteil der invasiv entnommenen Urinproben rät der Hersteller des *uCyt+* von der Anwendung des Tests ab. So ist die Testdurchführung aus Blasenspülurin und aus Katheterurin nicht empfohlen. Ob das Testergebnis tatsächlich durch die Manipulation beeinflusst wird, wurde laut der vorliegenden Quellen bisher nicht untersucht.

Es zeigt sich, dass bei invasiv entnommenen Urinproben der Anteil falsch-positiver Ergebnisse deutlich erhöht ist. Eine stark erhöhte Rate falsch-negativer Ergebnisse sieht man dementsprechend bei nichtinvasiv entnommenen Proben. In beiden Fällen scheint die Invasivität der Probenentnahme also einen deutlichen Einfluss auf das Testergebnis des *uCyt+* zu haben.

Die Ursache davon könnte – analog der Zytologie – in einer morphologischen Veränderung des Urothels durch die Manipulation liegen. Dass die

Tumorantigene CEA und Mucin durch die invasive Urinentnahme erhöht sein könnten ist äußerst unwahrscheinlich.

4.5.3.5. *NMP22*

Die Auswirkungen einer mechanischen Manipulation auf den NMP22-Test wurden bereits von Sharma et al. untersucht – hier wurde ein Einfluss auf das Testergebnis festgestellt. Allerdings gingen in die Analyse nur insgesamt 15 Patienten ein (Sharma et al. 1999), die Aussagekraft der Studie ist damit eingeschränkt. Die Studie von Ponsky et al. zeigt ähnliche Ergebnisse in einem Kollektiv von 49 Patienten (Ponsky et al. 2001). Aus einem größeren Kollektiv gibt es bisher keine Daten. Dennoch gilt die invasive Urinentnahme als relatives Ausschlusskriterium für den NMP22-Test – vom Hersteller wird in diesem Fall vor erhöhten Werten gewarnt. Denkbar wäre, dass ein erhöhter Zellumsatz in der Folge mechanischer Manipulation eine erhöhte Freisetzung von NMPs bewirkt (Poulakis et al. 2001).

In der vorliegenden Arbeit war der Anteil falsch-positiver Tests enorm erhöht, wenn die Urinprobe invasiv entnommen worden war. Ebenso war bei nichtinvasiver Urinentnahme die Rate falsch-negativer Ergebnisse deutlich höher. Der Einfluss einer mechanischen Manipulation auf das Testergebnis des NMP22 scheint damit sehr groß zu sein.

Die Beeinflussung des Testergebnisses steht wahrscheinlich in Zusammenhang mit einem erhöhten Zellumsatz nach einer mechanischen Manipulation. Für den Einsatz bei Neoblasen wurde festgestellt, dass hier innerhalb des gastrointestinalen Zellverbands ein höherer Zellumsatz stattfindet und dass dies zu erhöhten NMP22-Werten führt (Sharma et al. 1999). Möglicherweise gilt dieselbe Erklärung für die invasive Probenentnahme.

4.6. Wechselwirkungen der Faktoren

Die Ergebnisse multivariater Analysen beschreiben den Zusammenhang beziehungsweise die Unabhängigkeit der verschiedenen Faktoren mittels gemeinsamer Betrachtung. In der vorliegenden Arbeit wurde auch das Kriterium

‚Tumor/kein Tumor‘ mit in die multivariate Analyse einbezogen. So konnte nachgewiesen werden, ob ein Faktor - unabhängig von der An- oder Abwesenheit eines Tumors - noch signifikanten Einfluss auf das Testergebnis hat.

4.6.1. Wechselwirkungen der Faktoren auf die Zytologie

In der multivariaten Analyse zeigt sich für die Zytologie erwartungsgemäß das Kriterium ‚Tumor/kein Tumor‘ als signifikanter Einfluss auf das Testergebnis.

Von den in den Kontingenzanalysen unabhängigen Einflussfaktoren bleibt bei gemeinsamer Betrachtung lediglich die Hämaturie als unabhängiger signifikanter Einfluss auf die zytologische Befundung übrig. Eine Hämaturie wirkt sich also unabhängig vom Vorhandensein eines Tumors immer auch auf das Testergebnis aus und sollte dementsprechend in der Bewertung des Ergebnisses berücksichtigt werden.

Erst nach sukzessivem Reduzieren der gemeinsam betrachteten Faktoren zeigt sich der Einfluss des Harnwegsinfekts, schließlich bleibt als geringster Einflussfaktor die mechanische Manipulation übrig.

4.6.2. Wechselwirkungen der Faktoren auf den UroVysion-Test

Auch für den UroVysion-Test zeigte sich in der multivariaten Analyse erwartungsgemäß das Tumorhaben als signifikanter Einfluss auf das Testergebnis.

Der einzige in den Kontingenzanalysen unabhängige Einflussfaktor - die mechanische Manipulation bei Urinprobenentnahme - wies bei der multivariaten Betrachtung keinen unabhängigen signifikanten Einfluss mehr auf. Keiner der drei untersuchten Faktoren scheint also relevanten Einfluss auf den UroVysion-Test zu haben.

4.6.3. Wechselwirkungen der Faktoren auf den uCyt+-Test

Unabhängige Einflüsse auf das Testergebnis bilden in der multivariaten Analyse das Kriterium ‚Tumor/kein Tumor‘ und der Störfaktor Hämaturie. Auch hier ist

der Einfluss der Hämaturie auf das Testergebnis signifikant und unabhängig vom Tumorhaben und sollte entsprechend berücksichtigt werden. Erst in der Reduktion der Einflussparameter zeigt sich die mechanische Manipulation als Einflussfaktor auf das Testergebnis.

Obwohl der Harnwegsinfekt als relatives Ausschlusskriterium für den uCyt+-Test gehandelt wird, zeigt er in der gemeinsamen Betrachtung aller Faktoren keinerlei Einflussnahme auf das Testergebnis – auch nicht, wenn sukzessive alle anderen Einflüsse aus der Betrachtung entfernt werden.

4.6.4. Wechselwirkungen der Faktoren auf den NMP22-Test

In der multivariaten Analyse stellt sich ein Bild dar, das aus den einzelnen Kontingenzanalysen bereits zu ahnen war: Neben dem Einfluss des Faktors ‚Tumor/kein Tumor‘ sind in der gemeinsamen Betrachtung alle drei untersuchten Störfaktoren signifikante unabhängige Einflussgrößen auf das Testergebnis des NMP22-Tests. Alle drei Störfaktoren haben hier ein Signifikanzniveau von $p < 0,001$. Sofern die Störfaktoren nicht als Ausschlusskriterien für den NMP22 definiert werden, muss die Frage gestellt werden, in wie weit das Testergebnis also noch aussagefähig ist für das Vorhandensein eines Tumors. Dieser wäre dann nur ein Faktor unter Vielen.

4.7. Limitationen der vorliegenden Arbeit

4.7.1. Patientenkollektiv

Das in der vorliegenden Arbeit untersuchte Patientenkollektiv entspricht in seiner Zusammensetzung nicht der Normalbevölkerung. Durch die Einweisung der Patienten aufgrund eines bestehenden Tumorverdachts ergab sich ein Bias mit einer Häufung tumortragender Patienten. Die in dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse und Rückschlüsse gelten folglich weniger für die Gesamtbevölkerung, sondern vor allem für ein Kollektiv von Patienten mit Verdacht auf ein Harnblasenkarzinom.

Bedingt durch die Tatsache, dass die Studie an einer Universitätsklinik durchgeführt wurde, ist der Anteil der Patienten zur Rezidivdiagnostik relativ hoch. Im Vergleich mit dem normalen Patientenkollektiv einer Praxis ist diese Patientengruppe überrepräsentiert.

4.7.2. Potenzieller untersucherabhängiger Einfluss

In der Literatur wurde mehrfach beschrieben, dass die Auswertung mancher der untersuchten Tests einem gewissen subjektiven Einfluss durch den Untersucher unterliegt. Dies gilt in besonderem Maße für die Zytologie, aber auch für den UroVysion und den uCyt+-Test (Lokeshwar et al. 2005). Wenn im Moment der mikroskopischen Befundung bekannt ist, mit welcher Fragestellung die Untersuchung durchgeführt wurde, könnte dies zu einem untersucherabhängigen Bias der Befundung führen. So ist denkbar, dass der Befundende eher geneigt ist, einen Test positiv zu werten, wenn er weiß, dass bei diesem Patienten bereits in der Vorgeschichte ein Tumor diagnostiziert worden war.

Eine andere potenzielle Fehlerquelle liegt in der zwar hohen aber nicht 100%igen Sensitivität der Zystoskopie. Insbesondere für den UroVysion-Test wird diskutiert, ob falsch-positive Testergebnisse möglicherweise durch vorhandene Tumoren bedingt sein könnten, die jedoch noch so klein sind, dass sie in der Zystoskopie nicht erkannt werden (Campos-Fernandes et al. 2007). Dies könnte eine erhöhte Rate falsch-positiver Ergebnisse in der Rezidivdiagnostik erklären, da gerade hier die Wahrscheinlichkeit relativ hoch ist, dass ein Tumor vorhanden ist. Dieser prognostische Aspekt der Diagnostik mittels Urinmarker wird innerhalb unserer Arbeitsgruppe an anderer Stelle untersucht werden.

5. Schlussfolgerung

Ein Teil der Rückschlüsse aus den Ergebnissen dieser Arbeit soll eine kritische Betrachtung der bisherigen Ausschlusskriterien der untersuchten Tests sein. Dies gilt vor allem für den uCyt+ und den NMP22, da für diese beiden Tests – im Gegensatz zur Zytologie und zum UroVysion – mehrere Ausschlusskriterien definiert sind und auch manche der untersuchten möglichen Störfaktoren zu diesen Kriterien zählen. Desweiteren kann anhand der gewonnenen Daten eine Bewertung der Tests für die unterschiedlichen Anwendungssituationen gewagt werden. Dabei steht allerdings allein die Beeinflussbarkeit durch die untersuchten Störfaktoren im Mittelpunkt. Über die Sensitivität und Spezifität der Tests können aus der vorliegenden Arbeit keine Rückschlüsse gezogen werden.

5.1. Kritische Betrachtung bisheriger Ausschlusskriterien

5.1.1. Zytologie

Für die Urinzytologie ist bisher keiner der untersuchten potenziellen Störfaktoren als Ausschlusskriterium definiert gewesen. In den Ergebnissen dieser Arbeit stellt sich lediglich die Hämaturie als relevanter Einflussfaktor dar. Da aber gerade die Hämaturie meist erst die Ursache einer diagnostischen Abklärung ist, würde es wenig Sinn machen, diese als ausschließendes Merkmal zu definieren. Im Gegenzug kann aber gesagt werden, dass ein positives Ergebnis der Zytologie gerade dann besonders aussagekräftig ist, wenn keine Hämaturie besteht.

5.1.2. UroVysion

In der Gebrauchsanleitung des TestKits für den UroVysion sind keine Ausschlusskriterien explizit dargestellt.

In dieser Untersuchung zeigt sich eine Beeinflussung des Testergebnisses durch die invasive Urinprobenentnahme. Im Sinne einer sinnvollen Kostenreduktion wäre die Überlegung angebracht, ob die mechanische

Manipulation als Ausschlusskriterium für den UroVysion-Test definiert werden sollte.

5.1.3. uCyt+

Vom Hersteller DiagnoCure ist für die Anwendung des uCyt+-Tests keiner der untersuchten Störfaktoren als Ausschlusskriterium definiert, abgeraten wird von einer Anwendung bei invasiv entnommenen Urinproben. In vielen Studien wurden Patienten mit Harnwegsinfekt sowie invasiv entnommene Urinproben von der Untersuchung ausgeschlossen (Drapier et al 2003, Soyuer et al. 2009), vermutlich aufgrund der potenziellen Testbeeinflussung.

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse bestätigt sich der Ausschluss von invasiv entnommenen Urinproben von der Testdurchführung. Die Wertigkeit der Testergebnisse ist in diesen Fällen eingeschränkt, da sie von den Störfaktoren beeinflusst sind. Dasselbe gilt für Patienten mit Hämaturie – wobei analog zur Zytologie diese wohl kaum als Ausschlusskriterium definiert werden kann. Bei Patienten mit Harnwegsinfekt ist ein Ausschluss vom Test unbegründet, hier sind keine Störungen zu sehen.

5.1.4. NMP22

Für den NMP22-Test gibt der Hersteller Matritech an, dass gewisse Einschränkungen beachtet werden müssen, darunter fällt auch ein Teil der hier untersuchten Störfaktoren. Für Patienten mit Harnwegsinfekt soll die Testdurchführung nach eigenem Ermessen abgewägt werden. Innerhalb von 14 Tagen nach einer Zystoskopie oder einer Katheterisierung wird ebenfalls vor erhöhten Werten gewarnt. Für die Hämaturie wird angegeben, dass bei einer Blutbeimengung von bis zu 1% Vollblut keine Interferenzen zu erwarten sind.

Nach den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit ist der Einfluss der drei Störfaktoren Hämaturie, Harnwegsinfekt und mechanische Manipulation bei Probenentnahme derart hoch, dass diese als Ausschlusskriterien für den NMP22-Test gewertet werden sollten. Dies bestätigt ähnliche Ergebnisse aus den Studien von Sharma et al. 1999 und Ponsky et al. 2001 – allerdings wurde

hier die Hämaturie nicht berücksichtigt und es ging ein deutlich kleineres Patientenkollektiv von insgesamt 278 bzw. 608 Patienten ein.

Die Aussagekraft des Tests wäre für das übrige Patientenkollektiv, das keines der auszuschließenden Kriterien erfüllt, deutlich höher. Zudem ließe sich im Hinblick auf die Kostenkontrolle die Zahl der unnötigerweise durchgeführten Urinmarkertests senken.

5.2. Bewertung der Tests bezüglich ihrer Störanfälligkeit

An dieser Stelle soll eine Bewertung der Urinmarkertests folgen, die sich auf die gewonnen Erkenntnisse bezüglich der Störanfälligkeit der Tests für die evaluierten Einflüsse bezieht. Der beste Test ist derjenige, der in keiner Weise durch den Störfaktor beeinflusst wird. Das bedeutet, dass weder beim Vorliegen des Störfaktors falsch-positive Testergebnisse gehäuft sind, noch beim Fehlen des Störfaktors falsch-negative Testergebnisse vermehrt vorkommen.

Dabei muss besonders berücksichtigt werden, in welcher Häufigkeit die Störfaktoren vorkommen. Das hier erstellte Ranking bezieht sich auf ein Patientenkollektiv, in dem etwa 75% der Patienten eine Hämaturie und näherungsweise ein Fünftel einen Harnwegsinfekt hat.

Für Patienten, die eine Hämaturie zeigen ist der UroVysion-Test der einzige nicht beeinflusste und damit in diesem Sinne beste Urinmarker. Die Urinzytologie wird teilweise beeinflusst, uCyt+ und NMP22 werden beide stark von einer Hämaturie beeinflusst.

In der Diagnostik von Patienten mit Harnwegsinfekt stellen sich der UroVysion und der uCyt+ als die besten Urinmarker dar, da sie beide vom Infekt in keiner Weise beeinflusst werden. Bei der Zytologie sind vermehrt falsch-positive Ergebnisse zu sehen, der NMP22-Test wird in beide Richtungen beeinflusst und schneidet somit am schwächsten ab.

In der Evaluation von invasiv entnommenen Urinproben kann davon ausgegangen werden, dass die Zytologie am wenigsten beeinflusst wird. Hier

ist auch eine Unterscheidung der Patientengruppen sinnvoll: Für Patienten bei Erstdiagnostik sind Zytologie und UroVysion gleichermaßen unbeeinflusst. Bei Patienten, die zur Rezidivsuche kommen, ist der uCyt+-Test aussagekräftiger, da dieser hier nicht beeinflusst wird. Der NMP22-Test unterliegt in beide Richtungen starkem Einfluss.

6. Zusammenfassung

In der nichtinvasiven Diagnostik des Harnblasenkarzinoms kommen mehrere Urinmarkertests zum Einsatz. Ein Hauptproblem ist hierbei die limitierte Wertigkeit der Testverfahren, die möglicherweise bedingt ist durch einflussnehmende Störfaktoren. Mit der vorliegenden Arbeit sollte der Einfluss der potenziellen Störfaktoren Hämaturie, Harnwegsinfekt und Invasivität der Urinprobengewinnung auf die vier Biomarker NMP22, uCyt+, UroVysion und Urinzytologie untersucht werden.

In die Studie ging ein Kollektiv von n=2365 Patienten ein, bei denen mindestens einer der Tests bestimmt worden war. Eine nachfolgende Zystoskopie und gegebenenfalls Histologie diente als Kontrollparameter für die erhobenen Testergebnisse. Nach vorher festgelegten Kriterien wurden die Einflussfaktoren Hämaturie, Harnwegsinfekt und invasive Urinentnahme definiert, mittels Aktenrecherche wurden die relevanten Patientendaten ermittelt und in einer Datenbank für die Studie aufbereitet. Durch Kontingenzanalysen und multivariate Varianzanalysen wurde anschließend der Einfluss der Störfaktoren auf die Testergebnisse evaluiert.

Die Urinzytologie wird bei gemeinsamer Betrachtung der Störfaktoren lediglich durch die Hämaturie signifikant beeinflusst. Bei invasiver Urinentnahme zeigt die Zytologie im Vergleich der untersuchten Tests die geringste Beeinflussbarkeit, und ist damit hier der beste Test.

Der UroVysion-Test wird von keinem der drei untersuchten Faktoren relevant beeinflusst. Der einzige in den Kontingenzanalysen unabhängige Einflussfaktor - die invasive Urinentnahme - weist bei der multivariaten Betrachtung keinen signifikanten Einfluss mehr auf. Der UroVysion-Test stellt sich für Patienten mit Hämaturie oder Harnwegsinfekt als nicht beeinflusster und damit in diesem Sinne bester Urinmarker dar.

Unabhängigen Einfluss auf das Testergebnis des uCyt+-Tests hat in der multivariaten Analyse nur der Störfaktor Hämaturie. Obwohl der Harnwegsinfekt als relatives Ausschlusskriterium für den uCyt+-Test gehandelt wird, zeigt er keinerlei Einflussnahme auf das Testergebnis. Mit dem UroVysion ist er unter den untersuchten Tests der Beste bei Patienten mit Harnwegsinfekt.

Der NMP22-Test wird durch alle drei untersuchten Störfaktoren signifikant beeinflusst. Nach den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit wäre denkbar, diese als Ausschlusskriterien für den NMP22-Test zu werten.

7. Abkürzungen

Abb.	= Abbildung
AUR	= Ausscheidungsurogramm
Aqua dest.	= destilliertes Wasser
BCG	= Bacillus Calmette-Guérin
BLCA-4	= bladder cancer specific nuclear matrix protein 4
BTA	= bladder tumour antigen
bzw.	= beziehungsweise
CEA	= carcinoembryonales Antigen
CFHrp	= complement factor H related protein
CIS	= Carcinoma in situ
cm	= Zentimeter
CT	= Computertomographie
DIG-Anti-NMP22-Reagenz	= digoxigeninmarkierte Antikörper von der Maus
DNA	= Desoxyribonukleinsäure
EAU	= European Association of Urologists
ELISA	= enzyme-linked immunosorbent assay
e.V.	= eingetragener Verein
EORTC	= European Organization for Research and Treatment of Cancer
et al.	= et alii (lateinisch für ‚und andere‘)
FDA	= US Food and Drug Administration (US-Zulassungsbehörde)
FISH	= Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
GC	= Chemotherapie-Kombination aus Gemcitabin und Cisplatin
GmbH	= Gesellschaft mit beschränkter Haftung (Unternehmensform)
H ₂ SO ₄	= Schwefelsäure
HA-HAase	= Urinmarkertest, der Hyaluronsäure und Hyaluronidase detektiert
Hexvix	= hexaminolaevulinate fluorescence cystoscopy
HGPUC	= high grade papillary urothelial carcinoma
HRP-SAD-Reagenz	= Meerrettich-Peroxidase-markierte Antikörper vom Schaf
HWI	= Harnwegsinfekt
Inc.	= Incorporated (Corporation, US-Unternehmensform)

ISUP	= International Society of Urological Pathology
JMP	= Statistikprogramm
KGaA	= Kommanditgesellschaft auf Aktien (Unternehmensform)
LGPUC	= low grade papillary urothelial carcinoma
mechan.	= mechanisch
ml	= Milliliter
MRT	= Magnetresonanztomographie
M-VAC	= Kombinationstherapie aus Methotrexat, Vinblastin, Adriamycin und Cisplatin
nm	= Nanometer
NMP	= nuclear mitotic protein
NPW	= negativer prädiktiver Wert
NuMA	= nuclear mitotic apparatus protein
OPD	= o-Phenylenediamin (Reagenz beim NMP22-Test)
PDD	= photodynamic diagnostic
PEG	= Polyethylenglycol
PET-CT	= Positronenemissionstomographie
PUNLMP	= papillary urothelial neoplasm of low malignant potential
p-Wert	= Überschreitungswahrscheinlichkeit
Tab.	= Tabelle
TNM	= Tumorstadien-Einteilung
TRAK	= total reference air kerma
TUR-B	= transurethrale Resektion der Blase
U/ml	= Units (Einheiten) pro Milliliter
UICC	= Union Internationale Contre le Cancer
Wahrsch.	= Wahrscheinlichkeit
WHO	= World Health Organisation
WLC	= white light cystoscopy
5-JÜR	= 5-Jahres-Überlebensrate
°C	= Grad Celsius
µl	= Mikroliter
µm	= Mikrometer

8. Literaturverzeichnis

Abraham JB, Young J, Box G, Lee H, Deane L, Ornstein D. Comparative analysis of Laparoscopic and Robot-assisted Radical Cystectomy with Ileal Conduit Urinary Diversion. *J Endourol* 2007;21(12):1473-80

Atsü N, Ekici S, Öge Ö, Ergen A, Hascelik G, Özen H. False-positive results of the NMP22 Test due to hematuria. *J Urol* 2002;167:555-8

Babjuk M, Oosterlinck W, Sylvester R, Kaasinen E, Bohle A, Palou-Redorta J. EAU guidelines on non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder. *Eur Urol* 2008;54(2):303-14

Barentsz JO, Jager GJ, Witjes JA, Ruijs JH. Primary staging of urinary bladder carcinoma: the role of MR imaging and a comparison with CT. *Eur Radiol* 1996;6(2):129-133

Bassi P, Ferrante GD, Piazza N, Spinadin R, Carando R, Pappagallo G, Pagano F. Prognostic factors of outcome after radical cystectomy for bladder cancer: a retrospective study of a homogeneous patient cohort. *J Urol* 1999;161(5):1494-1497

Bergeron A, Champetier S, LaRue H, Fradet Y. MAUB is a new mucin antigen associated with bladder cancer. *J Biol Chem* 1996;271(12):6933-40

Bergeron A, LaRue H, Fradet Y. Identification of a superficial bladder tumor-associated glycoform of the carcinoembryonic antigen by monoclonal antibody 19A211. *Cancer Res* 1996;56(4):908-15

Bjerregaard BK, Raaschou-Nielsen O, Sørensen M, Frederiksen K, Christensen J, Tjønneland A, Overvad K, Chapelon FC, Nagel G, Chang-Claude J, Bergmann MM, Boeing H, Trichopoulos D, Trichopoulou A, Oikonomou E, Berrino F, Palli D, Tumino R, Vineis P, Panico S, Peeters PH, Bueno-de-Mesquita HB, Kiemeneij L, Gram IT, Braaten T, Lund E, Gonzalez CA, Berglund G, Allen N, Roddam A, Bingham S, Riboli E. Tobacco smoke and bladder cancer--in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Int J Cancer* 2006;119(10):2412-6

Böhle A, Bock PR. Intravesical bacille Calmette-Guérin versus mitomycin C in superficial bladder cancer: formal meta-analysis of comparative studies on tumor progression. *Urology* 2004;63(4):682-6

Brausi M, Collette L, Kurth K, van der Meijden AP, Oosterlinck W, Witjes JA, Newling D, Bouffouix C, Sylvester RJ; EORTC Genito-Urinary Tract Cancer Collaborative Group. Variability in the recurrence rate at first follow-up

cystoscopy after TUR in stage Ta T1 transitional cell carcinoma of the bladder: a combined analysis of seven EORTC studies. *Eur Urol* 2002;41(5):523-31

Bricker EM, Eiseman B. Bladder reconstruction from cecum and ascending colon following resection of pelvic viscera. *Ann Surg* 1950 Jul;132(1):77-84

Budman LI, Kassouf W, Steinberg JR. Biomarkers for detection and surveillance of bladder cancer. *Can Urol Assoc J* 2008; 2(3):212-21

Burtis, CA. Analytical procedures and instrumentation. In: Tietz NW. eds. *Fundamentals of Clinical Chemistry*. Verlag W.B. Saunders, Philadelphia, 3. Auflage, 1987

Campos-Fernandes JL, Descotes F, André J, Perrin P, Devonec M, Ruffion A. Value of urinary markers in the diagnosis and follow-up of urothelial bladder tumours. *Prog Urol* 2007;17(1):23-34.

Cardenas-Turanzas M, Cooksley C, Pettaway CA, Sabichi A, Grossman HB, Elting L. Comparative outcomes of bladder cancer. *Obstet Gynecol* 2006;108(1):169-75

Chang SS, Hassan JM, Cookson MS, Wells N, Smith JA. Delaying radical cystectomy for muscle-invasive bladder cancer results in worse pathological stage. *J Urol* 2003;170(4 Pt 1):1085-1087

Chiong E, Gaston KE, Grossman HB. Urinary markers in screening patients with hematuria. *World J Urol* 2008;26(1):25-30.

Cowan NC, Turney BW, Taylor NJ, McCarthy CL, Crew JP. Multidetector computed tomography urography for diagnosing upper urinary tract urothelial tumour. *BJU Int* 2007;99:1363-70

Drapier E, Renaudin K, Maillet F, Braud G, Laboissee C, Bouchot O. Value of the uCyt+ test for the detection and followup of bladder tumors. *Prog Urol* 2003;13(2):222-6.

Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM. *GLOBOCAN 2002: Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide IARC CancerBase No 5, version 2.0*. Lyon, France: IARC Press, 2004

Ferlay J, Autier P, Boniol M, Heanue M, Colombet M, Boyle P. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Ann Oncol* 2007;18(3):581-92

Fleischmann A, Thalmann GN, Markwalder R, Studer UE. Extracapsular extension of pelvic lymph node metastases from urothelial carcinoma of the bladder is an independent prognostic factor. *J Clin Oncol* 2005;23(10):2358-2365

Fossa SD, Ous S, Berner A. Clinical significance of the 'palpable mass' in patients with muscle infiltrating bladder cancer undergoing cystectomy after pre-operative radiotherapy. *Br J Urol* 1991; 67(1):54-60

Friedman GD, Carroll PR, Cattolica EV, Hiatt RA. Can hematuria be a predictor as well as a symptom or sign of bladder cancer? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996; 5:993-6

Friedrich MG, Hellstern A, Toma MI, Hammerer P, Huland H. Are false-positive urine markers for the detection of bladder carcinoma really wrong or do they predict tumor recurrence? *Eur Urol* 2003;43(2):146-50.

Getzenberg RH. Nuclear matrix and the regulation of gene expression: tissue specificity. *J Cell Biochem* 1994;55(1):22-31

Goebell PJ, Groshen SL, Schmitz-Dräger BJ. Guidelines for development of diagnostic markers in bladder cancer. *World J Urol.* 2008;26(1):5-11.

Greene KL, Berry A, Konety BR. Diagnostic Utility of the ImmunoCyt/uCyt+ Test in Bladder Cancer. *Rev Urol* 2006;8(4):190-7.

Grimm MO, Steinhoff C, Simon X, Spiegelhalder P, Ackermann R, Vogeli TA. Effect of routine repeat transurethral resection for superficial bladder cancer: a long-term observational study. *J Urol* 2003;170(2 Pt 1):433-7

Grossman HB, Messing E, Soloway M, Tomera K, Katz G, Berger Y, Shen Y. Detection of bladder cancer using a point-of-care proteomic assay. *JAMA.* 200;293(7):810-6.

Gupta P, Jain M, Kapoor R, Muruganandham K, Srivastava A, Mandhani A. Impact of age and gender on the clinicopathological characteristics of bladder cancer. *Indian J Urol.* 2009;25(2):207-10.

Haber GP, Campbell SC, Colombo JR, Fergany AF, Aron M, Kaouk J, Gill IS. Perioperative outcomes with laparoscopic radical cystectomy: "pure laparoscopic" and "open-assisted laparoscopic" approaches. *Urology* 2007;70(5):910-15

Halling KC, King W, Sokolova IA, Karnes RJ, Meyer RG, Powell EL, Sebo TJ, Cheville JC, Clayton AC, Krajnik KL, Ebert TA, Nelson RE, Burkhardt HM, Ramakumar S, Stewart CS, Pankratz VS, Lieber MM, Blute ML, Zincke H, Seelig SA, Jenkins RB, O'Kane DJ. A comparison of BTA stat, hemoglobin dipstick, telomerase and Vysis UroVysion assays for the detection of urothelial carcinoma in urine. *J Urol* 2002;167:2001-6

Herman MP, Svatek RS, Lotan Y, Karakiewicz PI, Shariat SF. Urine-based biomarkers for the early detection and surveillance of non-muscle invasive bladder cancer. *Minerva Urol Nefrol.* 2008;60(4):217-35.

Hiratsuka S, Watanabe A, Sakurai Y, Akashi-Takamura S, Ishibashi S, Miyake K, Shibuya M, Akira S, Aburatani H, Maru Y. The S100A8-serum amyloid A3-TLR 4 paracrine cascade establishes a pre-metastatic phase. *Nat Cell Biol.* 2008;10(11):1349-55

Horstmann M, Patschan O, Hennenlotter J, Werther M, Senger E, Feil G, Stenzl A. Combinations of urine-based tumour markers in bladder cancer surveillance. *Scand J Urol Nephrol* 2009; In press

Kaldor JM, Day NE, Kittelmann B, Pettersson F, Langmark F, Pedersen D, Prior P, Neal F, Karjalainen S, Bell J, et al. Bladder tumours following chemotherapy and radiotherapy for ovarian cancer: a case-control study. *Int J Cancer* 1995;63(1):1-6

Kaufman DS, Shipley WU, Feldman AS. Bladder cancer. *Lancet* 2009;374(9685):239-49

Lambl VD. Über Harnblasenkrebs. Ein Beitrag zur mikroskopischen Diagnostik am Krankenbette. *Prager Vierteljahresschr Heilk*1856;49:1-32

Lamm SH, Engel A, Penn CA, Chen R, Feinleib M. Arsenic cancer risk confounder in southwest Taiwan data set. *Environ Health Perspect* 2006;114(7):1077-82

Lokeshwar VB, Habuchi T, Grossman HB, Murphy WM, Hautmann SH, Hemstreet GP 3rd, Bono AV, Getzenberg RH, Goebell P, Schmitz-Dräger BJ, Schalken JA, Fradet Y, Marberger M, Messing E, Droller MJ. Bladder tumor markers beyond cytology: International Consensus Panel on bladder tumor markers. *Urology.* 2005;66(6 Suppl 1):35-63.

Lopez-Beltran A, Montironi R. Non-invasive urothelial neoplasms: according to the most recent WHO classification. *Eur Urol* 2004;46(2):170-6

Lotan Y, Svatek RS, Sagalowsky AI. Should we screen for bladder cancer in a high-risk population?: A cost per life-year saved analysis. *Cancer* 2006;107:982-90.

Lotan Y, Svatek RS, Malats N. Screening for bladder cancer: a perspective. *World J Urol.* 2008;26(1):13-8.

Madersbacher S, Hochreiter W, Burkhard F, Thalmann GN, Danuser H, Markwalder R, Studer UE. Radical cystectomy for bladder cancer today--a

homogeneous series without neoadjuvant therapy. *J Clin Oncol* 2003;21(4):690-696.

Margulis V, Lotan Y, Shariat SF. Survivin: a promising biomarker for detection and prognosis of bladder cancer. *World J Urol.* 2008;26(1):59-65.

McDougal WS, Shipley WU, Kaufman DS. Cancer of the bladder, ureter, and renal pelvis. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds. *CANCER: Principles and practice of oncology.* Verlag Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia. 8. Auflage, 2008:1358-84

McGrath M, Michaud DS, De Vivo I. Hormonal and reproductive factors and the risk of bladder cancer in women. *Am J Epidemiol* 2006;163(3):236-44

Merseburger AS, Kuczyk MA. The value of bladder-conserving strategies in muscle-invasive bladder carcinoma compared with radical surgery. *Curr Opin Urol* 2007;17(5):358-362.

Messing EM, Madeb R, Young T, Gilchrist KW, Bram L, Greenberg EB, Wegenke JD, Stephenson L, Gee J, Feng C. Long-term outcome of hematuria home screening for bladder cancer in men. *Cancer.* 2006;107(9):2173-9.

Miladi M, Peyromaure M, Zerbib M, Saïghi D, Debré B. The value of a second transurethral resection in evaluating patients with bladder tumours. *Eur Urol* 2003; 43(3):241-5

Mostofi FK, Sobin LH, Torloni H. Histological typing of urinary bladder tumors. International histological classification of tumors; No 10. Genf, Schweiz: World Health Organisation, 1973

Murphy WM. What's the trouble with cytology? *J Urol* 2006;176:2343-46

Nagele U, Anastasiadis AG, Merseburger AS, Corvin S, Hennenlotter J, Adam M, Sievert KD, Stenzl A, Kuczyk MA. The rationale for radical cystectomy as primary therapy for T4 bladder cancer. *World J Urol* 2007;25(4):401-405

Nagele U, Kuczyk M, Anastasiadis AG, Sievert KD, Seibold J, Stenzl A. Radical cystectomy and orthotopic bladder replacement in females. *Eur Urol* 2006;50(2):249-257

Nguyen CT, Jones JS. Defining the role of NMP22 in bladder cancer surveillance. *World J Urol.* 2008;26(1):51-8.

Nolte-Ernsting C, Cowan N. Understanding multislice CT urography techniques: many roads lead to Rome. *Eur Radiol* 2006;16(12):1670-86

Papanicolaou GN, Marshall V. Urine sediment smears as a diagnostic procedure in cancers of the urinary tract. *Science* 1945;101:519-20

Pashos CL, Botteman MF, Laskin BL, Redaelli A. Bladder cancer: epidemiology, diagnosis, and management. *Cancer Pract* 2002;10(6):311-22

Patschan O, Horstmann M, Thomas C, Schlemmer HP, Stenzl A. Diagnostik von Urothelkarzinomen des oberen Harntrakts. *Urologe A*. 2008;47(11):1487-96

Pawinski A, Sylvester R, Kurth KH, Bouffieux C, van der Meijden A, Parmar MK, Bijnens L. A combined analysis of European Organization for Research and Treatment of Cancer, and Medical Research Council randomized clinical trials for the prophylactic treatment of stage TaT1 bladder cancer. European Organization for Research and Treatment of Cancer Genitourinary Tract Cancer Cooperative Group and the Medical Research Council Working Party on Superficial Bladder Cancer. *J Urol*. 1996;156(6):1934-40

Ponsky LE, Sharma S, Pandrangi L, Kedia S, Nelson D, Agarwal A, Zippe CD. Screening and monitoring for bladder cancer: refining the use of NMP22. *J Urol*. 2001;166(1):75-8.

Poulakis V, Witzsch U, De Vries R, Altmannsberger HM, Manyak MJ, Becht E. A comparison of urinary nuclear matrix protein-22 and bladder tumour antigen tests with voided urinary cytology in detecting and following bladder cancer: the prognostic value of false-positive results. *BJU Int* 2001;88(7):692-701.

Raj GV, Herr H, Serio AM, Donat SM, Bochner BH, Vickers AJ, Dalbagni G. Treatment paradigm shift may improve survival of patients with high risk superficial bladder cancer. *J Urol*. 2007;177(4):1283-6

Rathert P, Roth S. *Urinzytologie. Praxis und Atlas*. Springer Medizin Verlag Heidelberg, 4. Auflage, 2007

Robert-Koch-Institut. *Krebs in Deutschland 2003-2004 Häufigkeiten und Trends*. 6. überarbeitete Auflage, 2008. www.rki.de, 2009

Rosenberg JE, Carroll PR, Small EJ. Update on chemotherapy for advanced bladder cancer. *J Urol* 2005;174(1):14-20

Sanchez-Carbayo M, Urrutia M, Silva JM, Romani R, Gonzalez de Buitrago JM, Navajo JA. Comparative predictive values of urinary cytology, urinary bladder cancer antigen, CYFRA 21-1 and NMP22 for evaluating symptomatic patients at risk for bladder cancer. *J Urol* 2001;165:1462-67

Savic S, Zlobec I, Thalmann GN, Engeler D, Schmauss M, Lehmann K, Mattarelli G, Eichenberger T, Dalquen P, Spieler P, Schoenegg R, Gasser TC, Sulser T, Forster T, Zellweger T, Casella R, Bubendorf L. The prognostic value

of cytology and fluorescence in situ hybridization in the follow-up of nonmuscle-invasive bladder cancer after intravesical Bacillus Calmette-Guérin therapy. *Int J Cancer*. 2009;124(12):2899-904.

Schmidbauer J, Witjes F, Schmeller N, Donat R, Susani M, Marberger M; Hexvix PCB301/01 Study Group. Improved detection of urothelial carcinoma in situ with hexaminolevulinate fluorescence cystoscopy. *J Urol* 2004;171(1):135-138

Schmitz-Dräger BJ, Tirsar LA, Schmitz-Dräger C, Dörsam J, Mellan Z, Bismarck E, Ebert T. Immunocytology in the assessment of patients with asymptomatic hematuria. *World J Urol*. 2008;26(1):31-7

Sengupta N, Siddiqui E, Mumtaz FH. Cancers of the bladder. *J R Soc Health* 2004; 124(5):228-229

Shariat SF, Marberger MJ, Lotan Y, Sanchez-Carbayo M, Zippe C, Lüdecke G, Boman H, Sawczuk I, Friedrich MG, Casella R, Mian C, Eissa S, Akaza H, Serretta V, Huland H, Hedelin H, Raina R, Miyanaga N, Sagalowsky AI, Roehrborn CG, Karakiewicz PI. Variability in the performance of nuclear matrix protein 22 for the detection of bladder cancer. *J Urol* 2006 a ;176(3):919-26

Shariat SF, Karakiewicz PI, Palapattu GS, Lotan Y, Rogers CG, Amiel GE, Vazina A, Gupta A, Bastian PJ, Sagalowsky AI, Schoenberg MP, Lerner S.P. Outcomes of radical cystectomy for transitional cell carcinoma of the bladder: a contemporary series from the Bladder Cancer Research Consortium. *J Urol* 2006 b ;176(6 Pt 1):2414-2422

Sharma S, Zippe CD, Pandrangi L, Nelson D, Agarwal A. Exclusion criteria enhance the specificity and positive predictive value of NMP22 and BTA stat. *J Urol*. 1999;162(1):53-7.

Shiely WU, Kaufman DS, Zehr E, Heney NM, Lane SC, Thakral HK, Althausen AF, Zietman AL. Selective bladder preservation by combined modality protocol treatment: long-term outcomes of 190 patients with invasive bladder cancer. *Urology* 2002;60(1):62-67

Sobin LH, Wittekind CH. TNM Classification of Malignant Tumours. Verlag John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey. 6. Auflage, 2002

Soyuer I, Sofikerim M, Tokat F, Soyuer S, Ozturk F. Which urine marker test provides more diagnostic value in conjunction with standard cytology-ImmunoCyt/uCyt+ or Cytokeratin 20 expression. *Diagn Pathol* 2009;4:20-6.

Stenzl A. Bladder Cancer: Work in progress. *Curr Opin Urol* 2009; 19:486-87

Stenzl A, Cowan N, De Santis M, Jakse G, Kuczyk M, Merseburger A, Ribal MJ, Sherif A, Witjes A. The Updated EAU Guidelines on Muscle-Invasive and Metastatic Bladder Cancer. *Eur Urol* 2009;55:815-25

Stenzl A, Hennenlotter J, Schilling D. Can we still afford bladder cancer? *Curr Opin Urol* 2008;18:488-92

Stenzl A, Nagele U, Kuczyk M, Sievert K, Anastasiadis A, Seibold J, Corvin S. Cystectomy – Technical Considerations in Male and Female Patients. *EAU Update Series* 2005;3:138-146

Stenzl A. Bladder substitution. *Curr Opin Urol* 1999;9(3):241-245

Stenzl A, Colleselli K, Bartsch G. Update of urethra-sparing approaches in cystectomy in women. *World J Urol* 1997;15(2):134-138.

Sullivan PS, Nooraie F, Sanchez H, Hirschowitz S, Levin M, Rao PN, Rao J. Comparison of ImmunoCyt, UroVysion, and urine cytology in detection of recurrent urothelial carcinoma: a "split-sample" study. *Cancer Cytopathol.* 2009;117(3):167-73.

Sylvester RJ, van der Meijden AP, Oosterlinck W, Witjes A, Bouffieux C, Denis L, Newling DW, Kurth K. Predicting recurrence and progression in individual patients with stage TaT1 bladder cancer using EORTC risk tables: a combined analysis of 2596 patients from seven EORTC trials. *Eur Urol* 2006; 49(3):466-77

Sylvester RJ, Oosterlinck W, van der Meijden AP. A single immediate postoperative instillation of chemotherapy decreases the risk of recurrence in patients with stage Ta T1 bladder cancer: a meta-analysis of published results of randomized clinical trials. *J Urol* 2004;171(6):2186-90

Telen MJ, Kaufman RE. The mature erythrocyte. In: Lee GR, Foerster J, Lukans J. eds. *Wintrobe's Clinical Hematology*. Verlag Williams and Wilkins, New York, 10. Auflage, 1998

Têtu B. Diagnosis of urothelial carcinoma from urine. *Mod Pathol.* 2009;22 Suppl 2:S53-9.

Tolson JP, Flad T, Gnau V, Dihazi H, Hennenlotter J, Beck A, Mueller GA, Kuczyk M, Mueller CA. Differential detection of S100A8 in transitional cell carcinoma of the bladder by pair wise tissue proteomic and immunohistochemical analysis. *Proteomics.* 2006;6(2):697-708.

Toma MI, Friedrich MG, Hautmann SH, Jäkel KT, Erbersdobler A, Hellstern A, Huland H. Comparison of the ImmunoCyt test and urinary cytology with other urine tests in the detection and surveillance of bladder cancer. *World J Urol* 2004;22(2):145-9.

Vaidya A, Soloway MS, Hawke C, Tiguert R, Civantos F. De novo muscle invasive bladder cancer: is there a change in trend? J Urol. 2001;165(1):47-50

Vallancien G, Abou El Fettouh H, Cathelineau X, Baumert H, Fromont G, Guillonnet B. Cystectomy with prostate sparing for bladder cancer in 100 patients: 10-year experience. J Urol 2002;168(6):2413-2417.

Van der Molen AJ, Cowan NC, Mueller-Lisse UG, Nolte-Ernsting CC, Takahashi S, Cohan RH. CT urography: definition, indications and techniques. A guideline for clinical practice. Eur Radiol 2008;18:4-17

Veeramachaneni R, Nordberg ML, Shi R, Herrera GA, Turbat-Herrera EA. Evaluation of fluorescence in situ hybridization as an ancillary tool to urine cytology in diagnosing urothelial carcinoma. Diagn Cytopathol 2003;28(6):301-7

Von der Maase H, Sengelov L, Roberts JT, Ricci S, Dogliotti L, Oliver T, Moore MJ, Zimmermann A, Arning M. Long-term survival results of a randomized trial comparing gemcitabine plus cisplatin, with methotrexate, vinblastine, doxorubicin, plus cisplatin in patients with bladder cancer. J Clin Oncol 2005;23(21):4602-08

Wild PJ, Giedl J, Stoehr R, Junker K, Boehm S, Van Oers JM, Zwarthoff EC, Blaszyk H, Fine SW, Humphrey PA, Dehner LP, Amin MB, Epstein JI, Hartmann A. Genomic aberrations are rare in urothelial neoplasms of patients 19 years or younger. J Pathol 2007;211(1):18-25

9. Anhang

Danksagung

Für die freundliche Überlassung des Themas dieser Dissertation sowie für die Bereitstellung der Mittel zur Durchführung der vorliegenden Arbeit möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. A. Stenzl, Ärztlicher Direktor der Klinik für Urologie Tübingen, ganz herzlich bedanken.

Herrn PD Dr. med. C. Schwentner bin ich zu großem Dank verpflichtet, der mich bei der Durchführung der Arbeit sowie der Erstellung der Dissertationsschrift betreute und der mir bei Bedarf jederzeit als Ansprechpartner mit wertvollen Hinweisen zur Verfügung stand.

Sehr großer Dank gebührt Jörg Hennenlotter, meinem Betreuer. Mit seinen Ideen, Anregungen und großer Fachkenntnis hat er wesentlich zum Gelingen der Arbeit beigetragen. Mit außerordentlicher Hilfsbereitschaft war er immerzu ansprechbar, er hatte stets ein offenes Ohr für Fragen. Sein Einsatz in Zeit und Mühe war immens und ist kaum zu beziffern. So manche angeregte Diskussion und spannendes Gespräch wird mir lange in Erinnerung bleiben. Auch für die Durchsicht der Arbeit und seine konstruktive Kritik bin ich sehr dankbar. Mit seinem unvergleichlichen Humor, großer Offenheit und seiner unkonventionellen Art hat er dafür gesorgt, dass die Arbeit an diesem Thema sehr viel Spaß gemacht hat.

Herzlich danken möchte ich meinen beiden Mitdotorandinnen, Harriet Sleiman und Petra Soliman für die ausgezeichnete, verlässliche und unkomplizierte Zusammenarbeit und für die gemeinsame Zeit, die wir zusammen in der Urologie verbracht haben.

Dem ganzen Team des urologischen Labors, insbesondere Valentina Gerber und Andrea Hohner, danke ich für die freundliche Arbeitsatmosphäre und für ihre Hilfsbereitschaft. Sie beantworteten mir gerne alle Fragen und ihre

Einführung in die praktische Durchführung der Urinmarkertests hat mir sehr weitergeholfen.

Bei Jörg Willmann möchte ich mich ganz herzlich bedanken für seine freundschaftliche Hilfe bei der Formatierung des Dokuments, für gute Ratschläge und seine ständige Ansprechbarkeit für alle computertechnischen Probleme.

Ein besonderer Dank gilt Kathrin, Nat und Achim fürs Zuhören und ihren motivierenden Rat, überhaupt noch dieses Projekt in Angriff zu nehmen.

Meinen Eltern Gisela und Peter Tews und meiner Familie danke ich von Herzen für ihre uneingeschränkte und verlässliche Unterstützung. Sie sind mir immerzu eine große Hilfe und Stütze gewesen.

Lebenslauf

Persönliche Angaben

Name: Veronika Tews
 Geburtsdatum: 10.02.1982
 Geburtsort: Reutlingen
 Familienstand: ledig
 Staatsangehörigkeit: deutsch

Schulbildung, Freiwilliges Soziales Jahr

1988-1992 Schillerschule (Grundschule) Reutlingen
 1992-2001 Albert-Einstein-Gymnasium Reutlingen
 09/2001-08/2002 Freiwilliges Soziales Jahr im Mutter-Werner-Heim
 der BruderhausDiakonie, Reutlingen

Studium

10/2002-09/2004 Vorklinisches Studium an der Universität Tübingen
 06/2004 Physikum
 10/2004-07/2007 Klinisches Studium an der Universität Tübingen
 08/2007-07/2008 Praktisches Jahr im Klinikum am Steinenberg,
 Reutlingen
 09.06.2009 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Auslandaufenthalte

08/2006-09/2006 Famulatur Innere Medizin am Centre Hospitalier
 Universitaire de Sherbrooke, Québec, Canada
 03/2008-05/2008 PJ-Tertial Chirurgie am Centre Hospitalier
 Universitaire Pointe-à-Pitre, Guadeloupe, Frankreich

Wissenschaftliche Tätigkeit

02/2009 Beginn der Aktenrecherchen im Labor der
 Universitätsklinik für Urologie Tübingen
 09/2009 Ende der Aktenrecherche, Auswertung der Daten;
 Beginn der Literaturrecherche und Ausarbeitung der
 Dissertationsschrift